

**BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ZELLGEHALT UND
BAKTERIOLOGISCHEM BEFUND VON
VIERTELGEMELKPROBEN BEIM DEUTSCHEN FLECKVIEH**

Reinhard Röder

*Lsgs
München
1905*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554813_0010

Aus dem Tiergesundheitsdienst Bayern
Fachbereich Lebensmittelhygiene
Leitung: Prof. Dr. W. Gedek

vorgelegt über:
Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Prof. Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ZELLGEHALT UND BAKTERIOLOGISCHEM BEFUND VON VIERTELGEMELKPROBEN BEIM DEUTSCHEN FLECKVIEH

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Reinhard Röder
aus
Pforzheim

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. G. Terplan

Korreferent: Prof. Dr. D.O. Schmid

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

Meinem Vater in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1	Einleitung
2	Schrifttum
2.1	Zellgehalt der Milch
2.1.1	Normale Milch
2.1.1.1	Zellbild
2.1.1.2	Schwankungen des Zellgehalts in Abhängigkeit von physiologischen Faktoren (Laktationsstadium, Lak- tationsalter)
2.1.2	Mastitismilch
2.1.2.1	Zellbild
2.1.2.2	Grenzwerte des Zellgehalts - Mastitisdefinition
2.1.2.3	Beziehungen zwischen einzelnen Mastitiserregern und dem Zell- gehalt der Euterviertel
2.1.3	Zellzahlbestimmung
2.1.3.1	Direkte Methoden
2.1.3.2	Indirekte Methoden
2.1.3.3	Schalm-Mastitis-Testreaktion und Zellzahl
2.2	Bakteriologie der Rindermastitis, insbesondere der subklinischen Form
2.2.1	Micrococcaceae
2.2.1.1	Systematik und Differenzierungs- methoden
2.2.1.2	Häufigkeit
2.2.2	Streptococcaceae
2.2.2.1	Systematik und Differenzierungs- methoden

	Seite
2.2.2.2	Häufigkeit und Bedeutung 21
2.2.3	Andere Erreger 23
2.2.3.1	Grampositive Keime 23
2.2.3.2	Gramnegative Keime 24
2.2.3.3	Hefen 24
2.2.3.4	Sonstige Erreger 25
2.3	Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel 25
3	Eigene Untersuchungen 26
3.1	Material 26
3.2	Methodik 26
3.2.1	Probenahme 26
3.2.2	Zellgehaltsbestimmung 27
3.2.2.1	Schalm-Mastitis-Test 27
3.2.2.2	Fluoreszenzoptische Methode 28
3.2.3	Erregernachweis 28
3.2.3.1	Micrococcaceae 29
3.2.3.2	Streptokokken 31
3.2.4	Statistische Auswertung 34
4	Versuche und Versuchsergebnisse 35
4.1	Verteilung der mikrobiologischen Befunde auf Euterviertel, Kühe und Betriebe 35
4.2	Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel 36
4.3	Gehäufte Nachweis eines Erregers in einzelnen Betrieb 37
4.4	Beziehungen zwischen mikrobiologischem Befund und Zellgehalt der Euterviertel 38

		Seite
4.5	Mikrobiologische Befunde und Zellgehaltsgrenzwerte	38
4.6	Gruppierung der Euterviertel nach Zellgehaltsbereichen und bakteriologischem Befund	39
4.7	Verteilung von Micrococcaceae-Isolaten auf Euterviertel, Kühe und Betriebe	39
4.8	Micrococcaceae-Isolate und Zellgehalt	40
4.9	Micrococcaceae-Isolate und Zellgehaltsgrenzwerte	41
4.10	Verteilung von Streptokokken auf Euterviertel, Kühe und Betriebe	41
4.11	Streptokokken und Zellgehalt	42
4.12	Streptokokken und Zellgehaltsgrenzwerte	43
4.13	Ergebnisse der serologischen Differenzierung von Streptokokken-Isolaten auf die Zugehörigkeit zu <i>S. agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i> , <i>S. uberis</i> und den Lactis-Streptokokken	43
4.14	Erreger geringer Euterpathogenität und Zellgehalt bzw. Zellgehaltsgrenzen	44
4.15	Erreger geringer Euterpathogenität und Zellgehalt bei Infektionen mit klassischen Mastitiserregern	44

		Seite
4.16	Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und den elektronisch ermittelten Zellzahlen von Viertel-Anfangsgemelkproben	44
4.17	Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und verschiedenen Grenzwerten des Zellgehalts	45
4.18	Tabellen	46
5	Diskussion	64
6	Zusammenfassung	71
7	Summary	73
8	Literaturverzeichnis	75

Seit vielen Jahren werden in den Ländern mit intensiver Milchviehhaltung erhebliche Anstrengungen in der systematischen Bekämpfung der Rindermastitis gemacht. Die Mastitisbekämpfung erhielt in der Bundesrepublik Deutschland einen neuen Impuls durch die Einbeziehung des Gehaltes der Milch an somatischen Zellen in die Gütebewertung der Anlieferungsmilch im Jahre 1980. Die Bekämpfung der häufig vorkommenden subklinischen Mastitis steht im Vordergrund der Maßnahmen und vermag am nachhaltigsten den Zellgehalt der Anlieferungsmilch zu beeinflussen. In diesem Zusammenhang erscheint die Erarbeitung einiger aktueller Daten über die Mastitissituation in Herden mit erhöhter Erkrankungsfrequenz in einer größeren Region Bayerns von praktischer Bedeutung.

Meine Aufgabe war es, in einer größeren Anzahl von Betrieben die aus den Eutersekreten der laktierenden Kühe isolierten Keime nach für die Bekämpfung relevanten Gesichtspunkten zu differenzieren und zum Zellgehalt der entsprechenden Euterviertel in Beziehung zu setzen. Auf diese Weise sollte eine nach Häufigkeit und Pathogenität abgestufte Skala der euterpathogenen Keime erstellt werden, wobei wichtige einzelne Merkmale der Isolate in die Auswertung einzubeziehen waren.

Außerdem sollten die Beziehungen von *C. bovis* zum Zellgehalt und die Zuverlässigkeit des Schalm-Mastitis-Test anhand der fluoreszenzoptisch ermittelten Zellzahl geprüft werden.

2.1 Zellgehalt der Milch

Unter dem Zellgehalt der Milch wird der Gehalt an somatischen Zellen, d.h. vom Körper des Tieres stammender Zellen, verstanden.

2.1.1 Normale Milch

Der Zellgehalt gilt als empfindlichster Indikator für die Beurteilung der Eutergesundheit. Physiologisch ist in der Milch mit unterschiedlichen Zellgehalten zu rechnen. Das arithmetische Mittel für bakteriologisch negative Viertel-Anfangsgemelkproben lag in zahlreichen Untersuchungen zwischen 250 000 und 500 000 Zellen/ml Milch (ZEIDLER et al., 1968; GUTHY et al., 1970; WARD und SCHULZ, 1972; MEEK et al., 1980; JAARTSVELD et al., 1983).

2.1.1.1 Zellbild

Während aufgrund älterer Untersuchungen (DIERNHOFER, 1950; MOURSİ und OBIGER, 1960; SINELL und NEUSCHULZ, 1965) angenommen wurde, daß der Zellgehalt der Milch vorwiegend aus Epithelzellen, pseudopolymorphkernigen Zellen (degenerierte Epithelzellen), Lymphozyten, Monozyten und polymorphkernigen Granulozyten besteht, ergaben neuere elektronenmikroskopische Untersuchungen (LEE et al., 1980), daß der vorherrschende Zelltyp normaler Milch Makrophagen sind. Epithelzellen wurden nur wenige gefunden.

2.1.1.2 Schwankungen des Zellgehalts in Abhängigkeit von physiologischen Faktoren (Laktationsstadium, Laktationsalter)

Für die Interpretation zytologischer Befunde in der Milch

ist die Feststellung von grundsätzlicher Bedeutung, daß der Zellgehalt von zahlreichen physiologischen Faktoren beeinflusst wird.

Laktationsstadium

Die Beziehungen zwischen Laktationsstadium und Zellgehalt in der Milch werden in der Literatur einheitlich diskutiert (ZEIDLER et al., 1969; FORBES, 1970; NATZKE et al., 1972; HESS und MEYER, 1978; RINDSIG et al., 1979; DOGG-WEILER und HESS, 1983). Erhöhte Zellgehalte werden im ersten Laktationsmonat und am Laktationsende beobachtet.

Laktationsalter

Von zahlreichen Autoren (REICHMUTH, 1968; ZEIDLER et al., 1969; NATZKE et al. 1972; RINDSIG et al., 1979) konnte ein Anstieg der durchschnittlichen Zellgehalte in Abhängigkeit vom steigenden Laktationsalter nachgewiesen werden, welcher nach der 5. bis 6. Laktation besonders deutlich ist.

2.1.2 Mastitismilch

Das Euter reagiert auf Infektionen schnell und deutlich mit einem Zellgehaltsanstieg. Entsprechend dem in einzelnen Eutervierteln meist isoliert ablaufenden Infektionsgeschehen treten infektionsbedingte Zellgehaltserhöhungen in der Milch der entsprechenden Viertel und nicht gleichzeitig auf allen vier Eutervierteln auf.

2.1.2.1 Zellbild

Im involutierenden Euter wurde eine Anreicherung von Lymphozyten, Makrophagen und Leukozyten beobachtet (SCHALM et al., 1971). Zwischen der Gesamtzahl somatischer Zellen und der Anzahl polymorphkerniger Leukozyten besteht eine hohe Korrelation. Mit zunehmender Anzahl somatischer Zellen erhöht sich der Anteil polymorphkerniger Leukozyten nicht nur absolut, sondern auch relativ (ZEIDLER et al., 1969).

2.1.2.2 Grenzwerte des Zellgehalts - Mastitisdefinition

Die Aussagekraft eines Grenzwerts für den Gehalt an somatischen Zellen in der Milch zur Unterscheidung gesunder und erkrankter Euterviertel wird seit langem diskutiert (DIERNHOFER, 1936; GERICK et al., 1973; THIEME und HAASMANN, 1978). Als Grenzwert wurde ein Gehalt von 100 000 Zellen/ml unter der Berücksichtigung bestimmter Milchinhaltsstoffe und der Milchleistung beschrieben (REICHMUTH, 1968; TOLLE et al., 1968; ZEIDLER et al., 1968a; BUNDESANSTALT FÜR MILCHFORSCHUNG, 1969; REICHMUTH et al., 1974). TOLLE (1971) ging von der Annahme aus, daß die Häufigkeitsverteilung der logarithmierten Zellzahlen von Milchproben aus gesunden Eutervierteln eine symmetrische ist. Er konstruierte eine Verteilungskurve für die Zellzahlen der Viertel-Anfangsgemelkproben und projizierte in diese Verteilung den absteigenden Schenkel einer angenäherten Gauß'schen Glockenkurve und ermittelte so einen Modalwert von rund 100 000 Zellen/ml. Die zweifache Standardabweichung (übliche biometrische Sicherheitsgrenze) lag bei etwa 500 000 Zellen/ml. Danach enthält die Milch aus gesunden Eutervierteln in der Regel um die 100 000 Zellen/ml. Der Gehalt an somatischen Zellen ist als normal zu beurteilen, wenn er 500 000 Zellen/ml nicht übersteigt. Bei höheren Zellzahlen muß eine Sekretionsstörung angenommen werden. DOGGWEILER und HESS (1983) gingen in analoger Weise vor. Sie ermittelten für Euterviertel von erstlaktierenden Kühen einen Modalwert von 20 000 Zellen/ml. Die zweifache Standardabweichung lag bei etwa 100 000 Zellen/ml. POUTREL und RAINARD (1982) ermittelten einen Grenzwert von 400 000 Zellen/ml. 35 % der mit Mastitiserregern infizierten Euterviertel lagen unter diesem Grenzwert. SHELDRAKE et al. (1983) ermittelten einen Grenzwert von 200 000 Zellen/ml. Von GEDEK et al. (1977) wurde nach Berechnung der Werte im Wahrscheinlichkeitsnetz der

Grenzwert beim Deutschen Fleckvieh mit 350 000 Zellen/ml angesetzt, wobei sich bei der Gegenüberstellung von Höhe der Zellzahl und Nachweis pathogener Mikroorganismen in diesem Bereich ein deutlicher Anstieg der prozentualen Häufigkeit positiver mikrobiologischer Befunde ergab. MCDERMOTT et al. (1982) wiesen darauf hin, daß zur Unterscheidung, ob ein Euterviertel gesund oder erkrankt ist, eine starre Festlegung eines Zellgehaltsgrenzwertes nicht genügt, da der Einfluß des Infektionsstatus der Herde groß ist.

Mastitisdefinition

Die INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1967, 1971) legte folgende Definitionen fest:

Normale Euter sind solche, die keine äußerlichen Zeichen von pathologischen Veränderungen zeigen und deren Milch frei ist von pathogenen Mikroorganismen.

Latente Infektionen liegen vor, wenn bei Anwesenheit pathogener Mikroorganismen der Zellgehalt normal ist.

Subklinische Mastitiden zeigen keine makroskopisch feststellbaren Entzündungssymptome, jedoch einen erhöhten Zellgehalt der Milch. Ebenso sind Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Milch nachweisbar.

Akute Mastitiden liegen vor, wenn das Euter typische Symptome einer Entzündung wie erhöhte Temperatur, Schmerzhaftigkeit, Schwellung, Rötung und Nachlassen der Milchleistung aufweist. Die Milch ist makroskopisch verändert und die Tiere haben teilweise eine erhöhte Körpertemperatur.

Subakute Mastitiden liegen beim Fehlen von offensichtlichen Entzündungssymptomen am Euter und beim Vorkommen von Flocken in der Milch, besonders im Anfangsgemelk, vor.

Unspezifische oder aseptische Mastitiden liegen vor, wenn bei fehlendem Nachweis einer Infektion subklinische oder klinische Symptome auftreten.

Als zytologischer Grenzwert des gesunden Euters wurden 500 000 Zellen/ml Milch festgelegt. Diese Definition gilt nur, wenn die Probe nach Verwerfen des ersten Milchstrahles aus dem Viertel-Anfangsgemelk von Kühen in normaler Laktation zur üblichen Melkzeit entnommen wurde.

Nach TOLLE et al. (1977) konnte diese Definition der Dynamik des Mastitisgeschehens nicht voll gerecht werden. Der Zellgehalt der Milch ist Ausdruck physiologischer Umbauprozesse, aktiver Abwehrreaktionen und von Reaktionen auf mechanische, chemisch-toxische und stoffwechselbedingte Euterreizungen. Nach einem von TOLLE (1976) empfohlenen Schema liegt eine normale Sekretion dann vor, wenn bei wiederholten bakteriologischen Untersuchungen von Viertel-Anfangsgemelkproben zwei von drei Proben negativ sind und die Anzahl somatischer Zellen im Durchschnitt nicht mehr als 125 000/ml beträgt. Die Grenze von 500 000 darf in keinem Fall überschritten werden. Bei gleichlautendem bakteriologischem Befund, jedoch Überschreitung der Zellzahlgrenze gesunder Euterviertel, liegt eine gestörte Sekretion vor. Sind bei Zellzahlen, die einer normalen Sekretion entsprechen, zwei von drei Proben positiv, ist das Viertel latent infiziert oder der Strichkanal mit Mastitiserregern besiedelt. Sind zwei von drei Proben positiv und werden gleichzeitig die zytologischen Befunde der normalen Sekretion überschritten, so liegt eine Mastitis vor.

Von anderen Autoren (AYNSLEY und BOUL, 1965; NEAVE, 1975) wurde zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit ebenfalls eine mehrmalige zytologische und mikrobiologische Untersuchung empfohlen. Ebenso wurde versucht, die diagnostische Sicherheit durch zusätzliche Untersuchung und Festlegung von Grenzwerten anderer Milchinhaltsstoffe oder Laborparameter zu erhöhen (LITTLE et al., 1968; LINZELL und PEAKER, 1972, 1975; STAHLHUT-KLIPP, 1973; REICHMUTH et al., 1974; GEDEK et al., 1977; MAIER, 1978; SHELDRAKE et al., 1983).

2.1.2.3 Beziehungen zwischen einzelnen Mastitis- erregern und dem Zellgehalt der Euterviertel

Nach einer infektionsbedingten Reizung des Euters werden Zellen exponentiell in die Milch ausgeschwemmt. Die Stärke der zellulären Abwehrreaktion entspricht dabei im Mittelwert zahlreicher Untersuchungen der Pathogenität der Krankheitserreger. Die klassischen Mastitiserreger *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis* bedingen einen starken Anstieg des Zellgehalts. Erreger geringer Euterpathogenität bedingen dagegen nur einen geringgradigen aber deutlichen Anstieg des Zellgehalts. Die einzelnen Autoren kamen dabei zu folgenden Ergebnissen:

ZEIDLER et al. (1968a) ermittelten das höchste arithmetische Mittel bzw. den höchsten Medianwert bei Milchproben von Eutervierteln, die mit *S. agalactiae* infiziert waren (1 965 000 bzw. 793 000 Zellen/ml), gefolgt von den koagulasepositiven Staphylokokken (1 616 000 bzw. 449 000 Zellen/ml), *S. dysgalactiae* (1 358 000 bzw. 477 000 Zellen/ml), *S. uberis* der serologischen Gruppe E (1 125 000 bzw. 578 000 Zellen/ml), *S. uberis* (880 000 bzw. 270 000 Zellen/ml), Enterokokken (591 000 bzw. 239 000 Zellen/ml) und bakteriologisch negativen Proben (494 000 bzw. 174 000 Zellen/ml).

GUTHY et al. (1970) fanden den höchsten Zellgehalt bei Eutervierteln, die mit *S. aureus* infiziert waren (1 716 000 Zellen/ml), gefolgt von Streptokokken (1 502 000 Zellen/ml) und koagulasenegativen Micrococcaceae (626 000 Zellen/ml)

WARD und SCHULZ (1972) fanden den höchsten Zellgehalt bei Eutervierteln, die mit *S. uberis* infiziert waren (1 625 000 Zellen/ml), gefolgt von *S. aureus* (1 498 000 Zellen/ml), koagulasenegativen und mannitolpositiven Staphylokokken (1 432 000 Zellen/ml), *S. agalactiae* (900 000 Zellen/ml) und Mikrokokken (356 000 Zellen/ml).

HARMON et al. (1981) fanden als Mittelwerte für koagulasepositive Staphylokokken 2 083 000 Zellen/ml, für koagulase-negative und DNasepositive Staphylokokken 331 000 Zellen/ml

sowie für koagulasenegative und DNasenegative Staphylokokken 254 000 Zellen/ml.

JAARTSVELD et al. (1983) untersuchten den zu erwartenden Anstieg der Zellzahlen in Viertel-Anfangsgemelkproben in Abhängigkeit von Infektionen mit verschiedenen Erregern für Kühe der Rassen Meuse-Rhine-Ijssel (MRY) und Dutch Fresian (DF). Den höchsten zu erwartenden Zellgehaltsanstieg ermittelten sie für DNase-positive Staphylokokken mit 706 000 Zellen/ml (MRY) bzw. mit 713 000 Zellen/ml (DF). Für Infektionen mit *S. agalactiae* betrug der zu erwartende Anstieg des Zellgehalts 503 000 Zellen/ml (MRY) bzw. 455 000 Zellen/ml (DF), für *S. uberis* 309 000 Zellen/ml (MRY) bzw. 233 000 Zellen/ml (DF). Der größte Rassenunterschied betraf die Infektionen mit *S. dysgalactiae* mit einem zu erwartenden Zellgehaltsanstieg von 771 000 Zellen/ml (MRY) bzw. von 394 000 Zellen/ml (DF). SHELDRAKE et al. (1983) ermittelten das geometrische Mittel der Zellgehalte der Euterviertel von Kühen aus drei Herden mit und ohne nachgewiesene Infektionen. Sie konnten dabei einen signifikanten Einfluß der Herden auf den Zellgehalt der mit den unterschiedlichen Erregern infizierten Euterviertel beobachten.

DE VRIES (1975 und 1976) fand, daß Infektionen durch Staphylokokken und Corynebakterien mit geringen Zellzahlen bei permanenter (361 000 bzw. 289 000 Zellen/ml) bzw. temporärer Infektion (173 000 bzw. 213 000 Zellen/ml) einhergingen. Euterviertel, bei denen Streptokokken nachgewiesen worden waren, wiesen wesentlich höhere Werte auf (647 000 bzw. 1 716 000 Zellen/ml).

BROOKS und BARNUM (1984) ermittelten für experimentell mit *C. bovis* infizierte Euterviertel einen geringen, jedoch signifikanten Anstieg des Zellgehalts von 130 900 auf 145 900 Zellen/ml.

WILSON und RICHARDS (1980) prüften die Zellgehalte von Viertel-Anfangsgemelkproben in Abhängigkeit von verschiedenen Erregern und ordneten sie bestimmten Bereichen zu. Den höchsten Anteil an Stämmen oberhalb der Grenzwerte von

300 000, 500 000 bzw. 1 000 000 Zellen/ml fanden sie bei Infektionen mit *S. agalactiae* (87,7 %, 77,6 % bzw. 58,7 %), gefolgt von *S. dysgalactiae* (84,3 %, 76,0 % bzw. 56,9 %), *S. uberis* (81,3 %, 67,2 % bzw. 45,4 %) und *S. aureus* (75,8 %, 63,3 % bzw. 42,8 %). Bei bakteriologisch negativen Eutervierteln lagen die entsprechenden Anteile bei 36,3 %, 20,8 % bzw. 8,5 %.

Nach POUTREL und RAINARD (1982) lagen 76,6 % der mit pathogenen Mikroorganismen infizierten Euterviertel über dem Grenzwert von 300 000 Zellen/ml und 54,6 % über dem von 500 000 Zellen/ml. 28,7 % der mit Erregern geringer Euterpathogenität infizierten Euterviertel wiesen Zellgehalte über 300 000/ml und 12,7 % über 500 000/ml auf. Von den bakteriologisch negativen Eutervierteln lagen 10,9 % über 300 000 Zellen/ml und 3,8 % über 500 000 Zellen/ml.

2.1.3 Zellzahlbestimmung

2.1.3.1 Direkte Methoden

Mikroskopische Zählung nach Prescott und Breed

Dieses Verfahren der Zählung somatischer Zellen in gefärbten Ausstrichen auf dem Objektträger ist seit Beginn dieses Jahrhunderts verfügbar. Noch heute ist die Technik nach PRESCOTT und BREED (1910) als Referenzverfahren anerkannt, obwohl wesentliche Irrtumsmöglichkeiten gegeben sind (LEIDL et al., 1961). Die erforderlichen manuellen und mikroskopischen Arbeiten sind zudem aufwendig.

Elektronische Zellzählung im Coulter-Counter

Von TOLLE et al. (1966) wurde ein elektronisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an somatischen Zellen in der Milch entwickelt. Durch den Einsatz eines Alkylphenolpolyglykoläthers als Emulgator

gelang es, die den Größenbereich der Zellen überlappen- den Fettkügelchen zu zerstören und Nativmilch so zu präparieren, daß die suspendierten Zellen als einzige Partikel ihres Größenbereichs nach dem Coulter-Prinzip elektronisch ausgezählt werden konnten.

Zählung nach dem fluoreszenzoptischen Prinzip (Fossomatic)

Die Zellzahlbestimmung mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie wurde 1975 von SCHMIDT MADSEN vorgestellt. Hierbei werden von einer erwärmten und gut durchgemischten Milchprobe 200 μ l entnommen und mit einer Puffer- und Farblösung verdünnt. Anschließend wird auf einer rotierenden Scheibe ein dünner Film aufgetragen. Aus dem Milchfilm werden die fluoreszierenden Zellen gezählt. Ausgewertet wird ein Äquivalent von 1 μ l Milch. Der optische Teil der Fossomatic-Anlage besteht aus einem konventionellen Auflichtmikroskop.

Die mit der Fossomatic-Anlage zu erhaltenden Ergebnisse wurden vergleichend mit denen der elektronischen Zählung im Coulter-Counter und denen der mikroskopischen Zählung geprüft. Die mit diesen Meßprinzipien bzw. -systemen zu erhaltenden Ergebnisse haben praktisch identischen Informationswert (HEESCHEN und TOLLE, 1976). Die Präzision der Messungen, d.h. die maximale Abweichung der Standardproben im Verlauf eines Analysen-Tages vom Mittelwert aller Standardproben, liegt beim Coulter-Counter und der Fossomatic-Anlage unterhalb 10 % (WERNERY, 1975).

2.1.3.2 Indirekte Methoden

Für die indirekte Zellgehaltsbestimmung stehen u.a. der Schalm-Mastitis-Test, der Brabanter-Mastitis-Test und der Whiteside-Test zur Verfügung.

Hierbei ist der durch die Veröffentlichungen von SCHALM und NOORLANDER (1957) bzw. SCHALM (1960) bekanntgewor-

dene Schalm-Mastitis-Test am weitesten verbreitet. Das Prinzip der Reaktion beruht auf dem Vermögen einiger oberflächenaktiver Stoffe (Alkylarylsulfonat) die Beschaffenheit der Milch, deren Zellgehalt erhöht ist, sichtbar zu verändern. Das Detergens sprengt hierbei die Zellmembran und die Zellkerne. Dabei soll aus den Zellkernen die Desoxyribonukleinsäure austreten, die mit dem Reagens einen Komplex bildet, der als Gel sichtbar wird. Dem Schalm-Mastitis-Test ist zusätzlich Bromkresolpurpur als Farbindikator für den pH-Wert der Milch und zur Erhöhung des Farbkontrasts für das Ablesen der Reaktion beigelegt.

2.1.3.3 Schalm-Mastitis-Testreaktion und Zellzahl

ZEIDLER et al. (1968b) ermittelten die arithmetischen Mittel der elektronisch ermittelten Zellzahlen für die unterschiedlichen Reaktionsstufen des Schalm-Mastitis-Tests. Negative Proben hatten dabei einen Mittelwert von 168 000 Zellen/ml, zweifelhafte von 323 000 Zellen/ml, schwach positive von 591 000 Zellen/ml, deutlich positive von 1 237 000 Zellen/ml und stark positive von 4 283 000 Zellen/ml. Zwischen den in den Logarithmus transformierten Ergebnissen der elektronischen Zellzählung und den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests ermittelten sie einen Korrelationskoeffizienten von $r=+0,69$. GUTHY et al. (1970) gingen in analoger Weise vor und ermittelten für bakteriologisch negative Proben einen Korrelationskoeffizienten von $r=+0,71$ und für bakteriologisch positive Proben von $r=+0,77$. Zwischen der direkten und der indirekten Zellzahlbestimmung besteht somit eine hochsignifikante Korrelation.

2.2 Bakteriologie der Rindermastitis, insbesondere der subklinischen Form

2.2.1 Micrococcaceae

2.2.1.1 Systematik und Differenzierungsmethoden

Innerhalb der Familie Micrococcaceae wird zwischen den Gattungen *Staphylococcus*, *Micrococcus* und *Planococcus* unterschieden. Die Gattungen *Staphylococcus* und *Micrococcus* interessieren in besonderer Weise, da sie nicht selten in Kuhmilch, auf der Euterhaut und an anderen Körperstellen beim Rind gefunden werden.

Staphylokokken und Mikrokokken sind grampositive, katalasepositive, kugelförmige Bakterien, die sich charakteristisch in mehr als einer Ebene vermehren und unregelmäßige Trauben bilden.

Die Gattung *Staphylococcus* ist von den anderen Micrococcaceae durch bestimmte Verschiedenheiten im Zellwand- aufbau zu unterscheiden, im Routinelabor durch die Fähigkeit anaerob zu wachsen und Glukose anaerob zu fermentieren.

In der 8. Auflage von "BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY" (1974) erfolgt die Unterteilung der Gattung *Staphylococcus* in die drei Arten *Staphylococcus* (S.) *aureus*, *S. epidermidis* und *S. saprophyticus*. Seitdem wurden einige neue Arten koagulasenegativer Staphylokokken beschrieben und die Definition der Arten *S. epidermidis* und *S. saprophyticus* enger gefaßt (KLOOS und SCHLEIFER, 1975; SCHLEIFER UND KLOOS, 1975; KLOOS et al., 1976). Des weiteren wurden zwei neue Arten, *S. intermedius* und *S. hyicus*, die nur für Tiere pathogen sind, beschrieben (HAJEK, 1976; DEVRIESE et al., 1978). Auf der Euterhaut und in der Milch fanden sich die koagulase-negativen Arten *S. xylosus*, *S. epidermidis*, *S. sciuri*, *S. haemolyticus*, *S. hyicus* subsp. *hyicus*, *S. hyicus* subsp. *chromogenes*, *S. simulans* und *S. cohnii* sowie ein geringer Prozentsatz nicht einzuordnender Staphylokokken (DEVRIESE, 1979).

Hauptsächlicher Krankheitserreger sowie einziger Enterotoxinbildner unter den Staphylokokken ist *S. aureus* (BLOBEL, 1977). Die koagulase negativen Staphylokokken und die Mikrokokken werden nach der Terminologie von GRIFFIN et al. (1977) als "minor pathogens", d.h. als Erreger mit geringer Euterpathogenität bezeichnet.

Die wichtigsten Kriterien, die pathogene *S. aureus*-Stämme von nicht pathogenen unterscheiden, sind: Mannitfermentation, Koagulase- und Hämolysevermögen, Toxinbildung, Gelatinase, Hyaluronidase, Phosphatase, Lipasen, Proteasen und Reduktion von Kaliumtelurit (BERGEY'S MANUAL, 1974). Im Routinelabor ist die Koagulase-reaktion als wichtigstes taxonomisches Kriterium zur Unterscheidung von *S. aureus* und den anderen Staphylokokkenarten sowie Mikrokokken anerkannt. Als Pathogenitätskriterien waren die Koagulase-reaktion ebenso wie der DNAsenachweis brauchbar (HESS und STUKER, 1975).

Koagulase-reaktion

Koagulase ist eine enzymähnliche Substanz, die in Gegenwart eines Plasmafaktors ("coagulase-reacting-factor") die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin herbeiführt. Nach den Empfehlungen des SUBCOMMITTEE ON TAXONOMY OF STAPHYLOCOCCI AND MICROCOCCI (1965) wird die Koagulase-reaktion durch Einimpfen der zu prüfenden Kultur in Kaninchen-Zitratplasma im Röhrchen und anschließender Bebrütung geprüft, wobei jeder Grad der Gerinnung als positiv zu bewerten ist. Diese in der Routinediagnostik aufwendige Methode kann in einem großen Teil der Fälle durch Prüfung der β -Hämolyse-inbildung ("hot-cold-lysis") auf geeignetem Blutagar ersetzt werden. Nach SCHALM und WOODS (1953) und GEDEK (1966) besteht zwischen der Bildung der β -Hämolysezone auf Rinderblutagar und dem positiven Ausfall der Koagulase-reaktion eine sehr enge Korrelation, so daß man in der Routinediagnostik den β -hämolysebildenden Staphylokokkenstamm als koagulase-positiv ansehen kann, wobei es gleichgültig ist, ob nur β -Hämolyse oder neben β -Hämo-

lysin auch noch andere Hämolysine gebildet werden. Wird β -Hämolysin nicht gebildet, kann der betreffende Staphylokokkenstamm durchaus koagulasepositiv sein.

Plasmaagglutination

Am einfachsten und schnellsten kann indirekt auf die Koagulase durch die Plasmaagglutination geschlossen werden. Indirekt, weil in Wirklichkeit nicht Koagulase, sondern "Clumping-Factor" dargestellt wird. "Clumping-Factor" ist eine an der Oberfläche praktisch aller koagulasepositiver Staphylokokken lokalisierte Substanz, die direkt mit Fibrinogen reagiert und dadurch in Sekundenschnelle eine Verklumpung der Staphylokokken im Plasma hervorruft. Im Routineverfahren wird die technisch einfach und schnell durchführbare Plasmaagglutination empfohlen, da sie bei koagulasenegativen Staphylokokkenstämmen nicht oder nur höchst selten zu falschpositiven Ergebnissen führt und da sie zu einem hohen Prozentsatz (88-99 %) koagulasepositive Stämme erfasst (GRÜN, 1961). Bei bovinen Staphylokokken fand GEDEK (1966) eine ausgezeichnete Übereinstimmung der Ergebnisse von Koagulase-reaktion und Plasmaagglutination, sofern die Stämme an-hämolytisch oder schwachhämolytisch waren. Bei stark-hämolytischen Stämmen (ohne β -Hämolysinbildung) wurden größere Abweichungen beobachtet. Für die Durchführung der Plasmaagglutination bei bovinen Staphylokokken erwies sich Plasma von Rind, Schwein, Menschen, Kanninchen und Hund sowie Fibrinogen vom Menschen und Rind als gut geeignet, wogegen Plasma von Pferd, Schaf und Ziegen nicht geeignet war (BRÜCKLER et al., 1981).

Von anderen Autoren (KLIMA, 1972; HILL, 1983) wird jedoch die Aussagesicherheit der Plasmaagglutination in Frage gestellt, da der Test stark von der Beschaffenheit des Plasmas, insbesondere seines Gehalts an spezifischen und unspezifischen Antikörpern abhängig sei. Weiter kämen einige Stämme von *S. aureus* vor, die eine negative Plasmaagglutinationsreaktion aufwiesen. Sie empfehlen daher den Nachweis von DNase bzw. Thermonuklease (hitze-stabile DNase).

Desoxyribonuklease

Die Desoxyribonuklease (DNase) ist ein Enzym, das in der Lage ist, Desoxyribonukleinsäure (DNA) zu spalten. DNasebildende Stämme zeigen nach Bebrütung auf DNA-haltigen Nährböden und Übergießen mit 1n HCL ringförmige Aufhellungszonen um die Bakterienkolonien. Viele Labors benutzen den DNasenachweis als Routineverfahren zur Identifizierung pathogener Staphylokokken. LACHICA et al. (1971a) zeigten, daß Staphylokokken hitzestabile und hitzelabile Nukleasen bilden. Die hitzestabile DNase ist typisch für *S. aureus* (BAIRD PARKER, 1974) sowie für *S. intermedius* (HAJEK, 1976) und *S. hyicus* (DEVRIESE et al., 1978). LACHICA et al. (1971b) entwickelten ein Nachweisverfahren für die hitzestabile DNase (Thermonuklease). Dieses Verfahren ist jedoch aufwendiger als der einfache DNasenachweis. DEVRIESE und VAN DE KERCKHOVE (1979) entwickelten daher ein standardisiertes Verfahren zum Nachweis von DNase, dessen Ergebnisse sehr gut mit dem Thermonukleasenachweis übereinstimmen. Stark positive Ergebnisse sind hierbei typisch für *S. aureus* von Mensch, Rind und Schwein. Ebenfalls stark positive Ergebnisse liefern *S. hyicus* subsp. *hyicus* sowie viele, jedoch nicht alle, Stämme von *S. intermedius*. Viele Stämme koagulase-negativer Staphylokokken und Mikrokokken liefern schwach-positive Ergebnisse (DEVRIESE, 1979).

Penicillinase

S. aureus zeigt Resistenzen gegenüber einer Vielzahl von Antibiotika und Chemotherapeutika, wobei am häufigsten Resistenzen gegenüber Penicillin G gefunden wurden (KUNTER, 1975; HANDY et al., 1975; WEIGT und BLECKMANN, 1977; MÜLLER und THALLER, 1979; RUND, 1981). Die Resistenzen gegenüber Penicillin G beruhen meist auf der Fähigkeit der Stämme Penicillinase zu bilden (VAN DAMME und DEVRIESE, 1971; GEDEK, 1978; RUND, 1981).

Penicillinase (β -Laktamase) ist ein Enzym, das in der Lage ist, den viergliedrigen β -Laktamring von Penicillin G

zu spalten. Das resultierende Produkt, die Penicilloylsäure, besitzt keine antibakterielle Aktivität mehr. Der Penicillinasenachweis erfolgt in der Mastitisdiagnostik häufig nach der von ROSSELET et al. (1977) und ROSSELET (1977) modifizierten Methode nach FOLEY und PERRET (1962) in der von GEDEK (1978) beschriebenen Methodik. Penicillinasebildende Stämme zeigen nach Bebrütung auf einer stärkehaltigen Agarplatte und Übergießen mit einer Penicillin G-haltigen Jod-Jodkalilösung ringförmige Entfärbungszonen um die Bakterienkolonien. Das Ergebnis des Penicillinasenachweises erlaubt unmittelbare therapeutische Konsequenzen, da ein negativer Befund das Penicillin G als Mittel der Wahl für die Therapie ausweist. Der Nachweis von Penicillinase-Bildnern verbietet dagegen den Einsatz von Penicillin G und räumt den Penicillinase-stabilen Isoxazolyl Penicillinen eine bevorzugte Stellung bei der Wahl des Arzneimittels ein, so daß sich die Empfindlichkeitsprüfung von Staphylokokken letztlich auf den Penicillinasenachweis beschränken kann (GEDEK, 1978, 1981b; GEDEK und KLEINSCHROTH, 1979).

2.2.1.2 Häufigkeit

Bedingt durch einen Rückgang der Infektionen mit *S. agalactiae* gewinnt *S. aureus* für die subklinische Mastitis des Rindes zunehmend an Bedeutung (RUND, 1981; HEJLICEK, 1984). In zahlreichen Untersuchungen war *S. aureus* der am häufigsten isolierte Einzelerreger (LEE und FROST, 1970; STICHTING GEZONDHEITZORG VOOR DIEREN, 1976; WILSON und RICHARDS, 1980; ANDREWS et al., 1983).

2.2.2 Streptococcaceae

2.2.2.1 Systematik und Differenzierungsmethoden

Die Familie der Streptococcaceae umfasst fünf Gattungen.

Im Gegensatz zur Familie der Micrococcaceae sind sie stets oxydase- und katalasenegativ. Von veterinärmedizinischer Bedeutung ist nur die Gattung Streptococcus. Die Arten dieser Gattung zeigen die Eigenart in flüssigen Medien Diploformen oder Ketten aus runden bis ovoiden Zellen mit einem Durchmesser unter 2 µm zu bilden. Sie sind stets grampositiv und meist unbeweglich.

Die Systematik der Streptokokken beruht im wesentlichen auf den von LANCEFIELD (1933) mit Hilfe der Präzipitationsreaktion differenzierten kohlenhydrathaltigen Kapselantigenen. Diese können extrahiert werden und ermöglichen die Zuordnung zu serologischen Gruppen, die mit den Buchstaben A - U bezeichnet sind. Die Identifizierung der einzelnen Spezies erfolgt durch zusätzliche biochemische Tests.

Morphologie

Auf Blutagar erscheinen die Streptokokken je nach Spezies als unterschiedlich große, farblos opaleszente, graue oder bräunliche Kolonien mit glattem oder unregelmäßigem Rand (LERCHE, 1966). In Bouillon erfolgt das Wachstum entweder unter gleichmäßiger Trübung oder unter Bildung eines schleimig flockigen Bodensatzes (HAHN et al., 1970). Im Kulturpräparat zeigen sie gute Färbbarkeit und sind in Diploform oder in kürzeren oder längeren Ketten gelagert (HALLMANN und BURKHARDT, 1974).

Eine Klassifizierung aufgrund morphologischer Merkmale ist nicht möglich, da diese inkonstant sind (HAUPT, 1964).

Hämolyseseformen

Nach SEELEMANN (1954) sind die hämolysierenden Eigenschaften bei der Charakterisierung der Streptokokken von großer Bedeutung. Es wird zwischen alpha-, alpha'-, beta- und gamma-Hämolysen unterschieden.

Bei der alpha-Hämolysen bilden sich unmittelbar um die Kolonie eine grau-grünliche verfärbte Zone (zerstörte Erythrozyten), dann ein schmaler aufgehellter Ring, in

dem auch die Erythrozyten mehr oder weniger zerstört sind. Hieran schließt sich eine schwach aufgehellte Übergangszone zum unveränderten Blutagar an. Eine genaue Aussage über diese Hämolyseform ist nur nach der Untersuchung mit Lupe bzw. Mikroskop möglich.

Die alpha'-Hämolyse ist oft schon nach weniger als 24stündiger Bebrütungszeit mit einer helleren breiteren Ringzone unmittelbar um die Kolonien sichtbar, ohne die grau-grünlich verfärbte Zone teilweise zerstörter Erythrozyten. Sie nimmt eine Zwischenstellung zwischen alpha- und beta-Hämolyse ein.

Bei der beta-Hämolyse bildet sich um die Kolonie eine breite hämolytische Zone an die sich eine Übergangszone mit abgeschwächter Hämolyse anschließt, bevor der unveränderte Blutagar folgt.

Die gamma-Hämolyse bewirkt keine sichtbare Veränderung des Blutagars.

CAMP-Test

Der CAMP-Test (CHRISTIE, ATKINS und MUNCH-PETERSEN, 1944) wird zur Unterscheidung von *S. agalactiae* und anderen Streptokokken durchgeführt. Auf einer Schaf- oder Rinderblutplatte wird diametral ein β -Toxin bildender Staphylokokkenstamm verimpft. Senkrecht dazu wird der zu untersuchende Streptokokkenstamm aufgetragen. Im Kontaktbereich der beiden Stämme bildet sich bei einem Streptokokkenstamm der serologischen Gruppe B eine schalen- oder keilförmige Hämolysezone. "Falschpositive" Ergebnisse können bei Streptokokken der serologischen Gruppen A, C, E und G auftreten (REMMERS, 1975). Da Stämme von *S. uberis* zu einem nicht geringen Prozentsatz einen positiven CAMP-Test zeigen (HEESCHEN und MEYER, 1965; SCHALM et al., 1971; HOFFMANN, 1972; HAHN, 1981), wird der Zusatz von Äskulin empfohlen. Ebenso sollen 3,1 % der Stämme von *S. agalactiae* ein negatives CAMP-Ergebnis liefern (SCHALM et al., 1971). Von HAHN et al. (1970) wird die Zuverläss-

sigkeit des CAMP-Tests mit 96-98 % in Bezug auf den Nachweis von B-Streptokokken veranschlagt. Nach WIESNER (1979) muß mit 1-2 % falschnegativen und bis zu 20 % falschpositiven Reaktionen gerechnet werden. In Zweifelsfällen kann die Natriumhippurat-Spaltung herangezogen werden, die bei *S. agalactiae* stets positiv verläuft.

Hippurat-Test

Bevor die serologische Eingruppierung nach LANCEFIELD (1933) bekannt war, wurde von AYERS und RUPP (1922) auf die Eigenschaft der Galtstreptokokken hingewiesen, Hippursäure in Benzoesäure und Glykokoll hydrolytisch spalten zu können.

Die Spaltung von Natriumhippurat läßt sich einerseits durch den Nachweis der Benzoesäure mit 7%iger bzw. 12%iger Eisenchloridlösung darstellen (AYERS und RUPP, 1922; FERRIERI et al., 1972), wobei Eisenbenzoat entsteht, das einen bräunlichen unlöslichen Niederschlag bildet, wenn 1/5 oder mehr des Natriumhippurates gespalten worden ist (AYERS und RUPP, 1922; FERRIERI et al., 1972). Der Test wird nach 48stündiger Bebrütungszeit abgelesen.

Andererseits kann der Nachweis des Glykokolls mit Ninhydrin erbracht werden, wobei Stämme, die Natriumhippurat spalten, mit Ninhydrin-Reagenz eine tief purpurrote Farbe produzieren (HWANG und EDERER, 1974). Diese Methode erfordert eine Bebrütungszeit von nur 2 Stunden, allerdings wird erheblich mehr Ausgangsmaterial benötigt.

Differenzierung der äskulinpositiven Streptokokken

Zu einer Vordifferenzierung der Streptokokken auf Blutagar wird das Verhalten gegenüber Äskulin geprüft. Äskulin ist ein Glykosid aus der Rinde der Roßkastanie, das im filtrierte UV-Licht blaue Fluoreszenz zeigt. Dieser Stoff wird durch Streptokokken der serologischen Gruppen D, E, N, P, Q, R, S, T, U, und einigen serologisch nicht eingruppierbaren Streptokokken in Trauben-

zucker und Äskuletin gespalten. Angehörige einiger serologischer Gruppen (C, G, H, L) zeigen positive oder negative Reaktion. Bei positiver Reaktion (Spaltung) tritt statt der blauen Fluoreszenz bräunlich-schwarze Färbung auf (DIERNHOFER, 1932)

Unter den Äskulinpositiven Streptokokken zeichnet sich *S. uberis* durch seine Empfindlichkeit gegenüber Penicillin G aus (STOVLBAEK PEDERSEN, 1960; HARRIS et al., 1977; GEDEK, 1981a; SCHAEREN et al., 1984) und kann aufgrund dieser Eigenschaft von den mäßig empfindlichen Enterokokken und Lactisstreptokokken abgegrenzt werden (STOVLBAEK PEDERSEN, 1960; GEDEK, 1981a).

Die Abgrenzung der Enterokokken erfolgt aufgrund ihrer Fähigkeit bei 45°C zu wachsen (HAHN, 1981). Die in der internationalen Literatur widersprüchlichen Angaben über das Vermehrungsverhalten von *S. uberis* bei einer Inkubationstemperatur von 45°C konnte von HAHN (1981) einwandfrei beurteilt werden. Von 3 605 untersuchten Stämmen waren nur 1,4 % positiv. Die Abgrenzung von Enterokokken kann somit als sicher gelten.

Serologische Differenzierung

Grundlage der serologischen Differenzierung ist das gruppenspezifische C-Polysaccharid-Antigen, ein vielverzweigtes Polysaccharid mit etwa zehn Seitenketten mit den gruppenspezifischen determinanten Endgruppen. Die Endgruppe besteht z.B. bei Streptokokken der serologischen Gruppe A aus N-acetylglucosamin, bei der serologischen Gruppe B aus L-Rhamnose, bei der serologischen Gruppe C aus N-acetylgalactosamin. Fast jede serologische Gruppe umfasst verschiedene Typen-Antigene, die aus Protein- oder Kohlenhydratverbindungen bestehen (HAHN et al., 1970). Das gruppenspezifische C-Polysaccharid-Antigen verursacht nach Immunisierung von Kaninchen die Bildung spezifischer Antikörper (SEELEMAN, 1954; HAHN et al., 1970). Mit Hilfe dieser Antikörper lassen

sich dann Streptokokkenstämme anhand des gruppenspezifischen Polysaccharid-Antigens differenzieren. Zur Gewinnung dieses Antigens werden die fraglichen Streptokokkenkulturen in flüssigen Nährmedien angezüchtet, dann erfolgt nach Zentrifugation die Extraktion des gruppenspezifischen C-Polysaccharids aus dem Sediment.

2.2.2.2 Häufigkeit und Bedeutung

Wie zahlreiche Untersuchungen zeigen, sind Streptokokken neben *S. aureus* die vorherrschenden Erreger beim Mastitisgeschehen des Rindes (LEE und FROST, 1970; KUNTER, 1975; STICHTING GEZONDHEITSZORG VOOR DIEREN, 1976, BERGMANN et al., 1980, WILSON und RICHARDS, 1980; ANDREWS et al., 1983). Die drei klassischen Mastitiserreger innerhalb der Gattung *Streptococcus* sind *Streptococcus* (S.) *agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis* (FACHGRUPPE MILCHHYGIENE DER DEUTSCHEN VETERINÄRMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT, 1980; HAHN, 1981). Sie sind die innerhalb der Gattung *Streptococcus* am häufigsten gefundenen Erreger (LEE und FROST, 1970; HOFFMANN, 1972; HAHN und TOLLE, 1979).

Von den drei klassischen Mastitiserregern innerhalb der Gattung *Streptococcus* nimmt *S. agalactiae* (serologische Gruppe B) aufgrund seiner Verbreitung und seiner immer mehr in den Vordergrund tretenden ursächlichen Bedeutung für zum Teil schwerwiegende Erkrankungen bei Menschen eine besondere Stellung ein (HAHN, 1981). Beim Rind stellt der oft subklinisch oder subakut verlaufende "Gelbe Galt", verursacht durch *S. agalactiae*, eine hochkontagiöse Euterkrankheit dar (SEELEMAN, 1954), die lange Zeit innerhalb der Streptokokken-Infektionen die größte Bedeutung hatte (NEUNDORF, 1963; BEERWERTH und KÖSER, 1965; HOFFMANN, 1972; KUNTER, 1975). Erst umfangreiche Bekämpfungsmaßnahmen über einen längeren Zeitraum führten zu einem Rückgang der "Galtinfektionen" (OLSEN, 1975;

WILSON, 1975; EBERHART und BUCKALEW, 1977; KARGE und HAAS-MANN, 1978; HEJLIČEK, 1984).

S. uberis, dessen Eingruppierung in die serologische Gruppe E aufgrund seiner Reaktion mit E-Serum noch diskutiert wird (HAHN et al., 1970), ist, gemessen am Vorkommen, als Mastitiserreger von geringerer Bedeutung als *S. agalactiae* (KUNTER, 1975; STICHTING GEZONDHEITSZORG VOOR DIEREN, 1976; WILSON und RICHARDS, 1980; HAHN, 1981). MCDONALD und MCDONALD (1976) fanden dagegen in 71 *S. agalactiae*-freien Herden 56,5 % *S. uberis* unter den aus Euterinfektionen stammenden Streptokokken-Isolaten.

S. dysgalactiae (serologische Gruppe C) entspricht in seiner Verbreitung etwa *S. uberis* (STICHTING GEZONDHEITSZORG VOOR DIEREN, 1976; WILSON und RICHARDS, 1980; HAHN, 1981).

Enterokokken (serologische Gruppe D) und Lactisstreptokokken (serologische Gruppe N) gelten, gemessen am gesamten Spektrum der Mastitiserreger, als relativ selten (FACHGRUPPE MILCHHYGIENE DER DEUTSCHEN VETERINÄRMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT, 1980), sind jedoch nicht ohne Bedeutung. So fanden HELLMANN et al. (1972), daß in Einzelgemelken mit erhöhtem Zellgehalt, einschließlich solcher mit nachweisbarem Eiter, Streptokokken der serologischen Gruppe D nach Streptokokken der serologischen Gruppe B am zweithäufigsten vorkamen. MCDONALD und MCDONALD (1976) fanden in 71 *S. agalactiae*-freien Herden in den USA immerhin 24,2 % Enterokokken unter den aus Euterinfektionen stammenden Streptokokken-Isolaten. Vom NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1978) der USA wurden Enterokokken neben den klassischen Mastitiserregern *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis* sowie *S. aureus* als vorherrschender Typ von Kokkeninfektionen in der Mehrheit der Milchviehherden benannt. HAHN und TOLLE (1979) wiesen darauf hin, daß aus Viertel-Anfangsgemelkproben stammende Enterokokken nicht unbedingt eine ursächliche Bedeutung als Mastitiserreger haben, da sie sehr häufig

als saprophytäre Kontaminanten festgestellt werden.

Streptokokken der serologischen Gruppen G und L werden gelegentlich als Mastitiserreger isoliert (BEERWERTH, 1963; BEERWERTH und KÖSER, 1965; BEERWERTH et al., 1965; KUNTER, 1975; SCHÄLLIBAUM et al., 1978; GEDEK, 1981a; MÜLLER, 1982), solche weiterer serologischer Gruppen dagegen nur selten (HEESCHEN und MEYER, 1965; LORENZEN, 1968; KUNTER, 1975; BERGMANN et al., 1980; MÜLLER, 1982).

2.2.3. Andere Erreger

2.2.3.1 Grampositive Keime

Corynebacterium bovis

C. bovis wird häufig bei der bakteriologischen Untersuchung steril entnommener Milchproben gefunden (RAINARD und POUTREL, 1982; ANDREWS et al., 1983). C. bovis ist ein Kommensale des Euters, der jedoch auch die Ursache von Mastitis sein kann (BERGEY'S MANUAL, 1974). Nach der Terminologie von GRIFFIN et al. (1977) wird C. bovis als "minor pathogen", d.h. Erreger mit geringer Euterpathogenität bezeichnet.

Eine Infektion mit C. bovis verursacht einen geringen, jedoch signifikanten Anstieg der somatischen Zellen in der Milch (FORBES, 1970; BROOKS und BARNUM, 1984). Die Infektion eines Euterviertels mit C. bovis scheint einen Schutz gegenüber Infektionen mit pathogenen Mikroorganismen zu bieten (FORBES, 1970; BLACK et al., 1972; POSTLE et al., 1978).

Corynebacterium pyogenes

C. pyogenes ist der Erreger der Holsteinschen Euterseuche, die in bestimmten Niederungsgebieten Norddeutschlands bei Weidehaltung insbesondere bei Jungtieren, Färsen und trockenstehenden Kühen in enzootischer Form auftritt (TOLLE et al., 1983). C. pyogenes wird aber auch als Erreger sporadisch auftretender Euterentzündungen nach-

gewiesen. Die Infektion verläuft meist akut, das Sekret ist fast ausnahmslos stark verändert, anfangs dünnflüssig, mit Flocken durchsetzt und später eitrig (SCHALM et al., 1971).

2.2.3.2 Gramnegative Keime

Coliforme Keime

Coliforme Keime, Gattungen bzw. Species aus der Familie der Enterobacteriaceae mit der Fähigkeit der Lactose-spaltung, sind in der Umgebung der Milchtiere massiv vorhanden, denn als Besiedler des Dickdarms werden sie in großer Menge mit den Faeces ausgeschieden. Ein Teil der saprophytär lebenden Enterobacteriaceae kann pathogen wirken, wenn diese in Gewebe außerhalb des Intestinaltrakts gelangen. Als Mastitiserreger werden überwiegend *Escherichia coli* (verschiedene serologische Typen) sowie *Klebsiella*- und *Enterobacter*arten beobachtet. *E. coli*-Mastitiden werden gehäuft unmittelbar nach der Geburt und in den ersten Wochen der Laktation beobachtet. Obwohl *E. coli* in der Umgebung der Kühe weit verbreitet ist, ist diese Mastitis relativ selten (JAIN, 1979). Diese Mastitis verläuft meist akut oder perakut und in der Mehrzahl der Fälle unter erheblichen Allgemeinstörungen. Bei Mastitiden mit tödlichem Ausgang ist *E. coli* der am häufigsten gefundene Erreger (HAZLETT et al., 1984).

2.2.3.3 Hefen

Ein sehr unterschiedliches klinisches Bild zeigt die Hefemastitis. Sie kommt zwar selten vor, kann aber in der einzelnen Herde größere Schäden verursachen. Die häufigsten Erreger sind in Deutschland Species der Gattung *Candida* (WEIGT, 1973). Am häufigsten ist die Hefemastitis nach Euterbehandlungen zu beobachten. Als Ursache kommen kontaminierte Arzneimittel oder die unhygienische Applikation von Arzneimitteln in Frage.

2.2.3.4 Sonstige Erreger

Unter geeigneten Bedingungen scheint nahezu jeder Mikroorganismus in der Lage zu sein, Mastitiden auszulösen. Außer den kurz umrissenen Mastitiserregern wurden noch folgende Mikroorganismen als Ursache exogener Infektionen der Milchdrüse nachgewiesen:

Bakterien: *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*,
Corynebacterium ulcerans, Listerien, *Nocardien*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp., Salmonellen,
Serratia marcescens, *Yersinia pseudotuberculosis* und Mycoplasmen.

Pilze: *Trichosporon*

Hefen: *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces* spp.,
Torulopsis spp.,

sowie Virus- und Algenarten.

2.3 Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel

Während die Erkrankungshäufigkeit einzelner Euterviertel nach den Untersuchungen von HEIDRICH und RENK (1963) sowie SEELEMAN (1954) keine Unterschiede aufwies, konnten andere Untersucher eine deutliche Bevorzugung der Hinterviertel registrieren (SCHMOLIK, 1980; OBERMAYER, 1981; SAILE, 1981; HEMAUER, 1982). TEUTE (1961) ermittelte bei Streptokokken eine ungefähr gleiche Verteilung auf alle vier Euterviertel, während bei Staphylokokken die Infektionsrate der Hinterviertel mit 30,5 % bzw. 32,0 % wesentlich über der der Vorderviertel mit 24,2 % bzw. 13,3 % lag.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 .

MATERIAL

Probenumfang

Aus 167 Betrieben mit insgesamt 2 979 Kühen wurden 10 072 Viertel-Anfangsgemelkproben von 2 518 Kühen im Zeitraum von Mai 1984 bis November 1984 im Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V., Grub, zytologisch und bakteriologisch untersucht. Bei den Versuchsherden handelte es sich um zufällig ausgewählte Betriebe mit erhöhter Mastitisfrequenz. 461 Kühe konnten nicht in die weiterführenden Untersuchungen einbezogen werden. Sie wurden zum Zeitpunkt der Probenahme nicht mehr regelmäßig gemolken, befanden sich im Kolostralstadium (324 Kühe) oder waren kurz vor der Probenahme intramammär behandelt worden (32 Kühe). Bei 89 Kühen waren verödete Viertel festzustellen. Schließlich konnten die Viertel-Anfangsgemelkproben von 16 Kühen nicht ordnungsgemäß untersucht werden, da die entsprechenden Nährbodenplatten von Proteus überwuchert waren.

3.2

METHODIK

3.2.1

Probenahme

Die Probenahme erfolgte nach der Methode von DIERNHOFER (1950) durch Techniker des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V., Grub. Dabei wurden die Zitzenkuppen zuerst von groben Verschmutzungen befreit und anschließend mit 70 %igem vergälltem Alkohol desinfiziert. Die ersten Strahlen des Gemelks wurden verworfen. Als Konservierungsmittel diente ein Lyophylisat aus 5g Borsäure (Art. 162, Merck) und 1ml Glycerin (Art. 4 091, Merck), durch leichtes Erwärmen in 100ml in destilliertem Wasser gelöst. Zwischen Probenahme und Untersuchung lag im Extremfall ein Zeitraum von zweieinhalb Tagen. Die zytologische und bakteriologische Untersuchung der Proben wurde im Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V. in Grub durchgeführt.

3.2.2 Zellgehaltsbestimmung

3.2.2.1 Schalm-Mastitis-Test

Der Zellgehalt wurde indirekt mittels Schalm-Mastitis-Test unmittelbar nach der Gewinnung der Viertel-Anfangsgemelkproben oder in seltenen Fällen auch nach der bakteriologischen Untersuchung im Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V. in Grub durchgeführt.

Die Beurteilung der Reaktionen erfolgte nach dem Schema von SCHALM und NOORLANDER (1957) mit Ausnahme der zweifelhaften Reaktion. Sie wurde im Falle einer sehr leichten Konsistenzänderung als negativ beurteilt und im Falle einer etwas deutlicheren als schwach positiv. Separat wurde die positive Reaktion mit sinnfälliger Veränderung der Milch (z.B. Flocken) beurteilt, so daß folgendes Beurteilungsschema zugrundelag:

negativ (=0)	die Probe bleibt flüssig, keine Kennzeichen einer Konsistenzänderung oder Schlierenbildung bzw. eine sehr leichte Konsistenzänderung
schwach positiv (=1)	leichte Konsistenzänderung, eine verstärkte Schlierenbildung, aber noch keine Tendenz zur Gelbildung
positiv (=2)	die Mischung verdickt sich augenblicklich, geringgradige Gelbildung
stark positiv (=3)	starke Konsistenzänderung und Gelbildung, die eine konvexe Oberfläche der Mischung bedingt
sinnfällig verändert (=4)	die Milch ist sinnfällig verändert (z.B. Flocken) und zeigt außerdem die Merkmale der stark positiven Reaktion

3.2.2.2 Fluoreszenzoptische Methode

Der Zellgehalt der Viertel-Anfangsgemelkproben wurde direkt mit Hilfe des Fossomatic 90 (N. FOSS ELECTRIC, DÄNEMARK) auf fluoreszenzoptischen Weg nach der von SCHMIDT MADSEN (1975) beschriebenen Methode bestimmt. Dabei wurde die in der vom BUNDESGESUNDHEITSAMT herausgegebenen "Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG" beschriebene Untersuchungstechnik übernommen.

Von der im Wasserbad erwärmten und anschließend gut durchmischten Milchprobe wurden mittels einer Pipette 0,2ml Milch entnommen und langsam und gleichmäßig in das Probegefäß des Geräts pipettiert. Hier wurde die Probe mit Puffer- und Farblösung gründlich gemischt. Ein Teil dieser Mischung wurde in Form eines dünnen Films von 0,5mm Breite und 1µm Dicke auf eine rotierende Scheibe verbracht, die als Objektträger für das Fluoreszenzmikroskop diente. Jede Zelle produzierte einen elektrischen Impuls, der nach entsprechender Verstärkung registriert wurde. Die Anzahl der somatischen Zellen wurde in 1 000/ml direkt ausgedruckt.

Zur Kontrolle wurden während der Untersuchungen täglich Standardproben (N. FOSS ELECTRIC) geprüft. Die maximale Abweichung der Standardproben vom Mittelwert aller Standardproben lag unterhalb 10 %.

3.2.3 Erregernachweis

Die mikrobiologische Untersuchung der Proben auf euterpathogene Keime erfolgte nach den vom NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1969) empfohlenen Richtlinien. Um eine Kontamination der Milchproben durch Erreger aus der Umgebung der Kühe auszuschließen, wurden die Proben nur dann als bakteriologisch positiv bewertet, wenn pro Ausstrich mehrere gleichartige Kolonien nachgewiesen wurden. Mit geringer Abweichung zu DEVRIESE (1979) wurden hierbei mindestens vier gleichartige Kolonien als Grenze gesetzt. Dagegen galt jeder Nachweis von *S. agalactiae* als positiver Befund, da dieser

Erreger außerhalb des Rindereuters nur selten vorkommt (BEERWERTH und KÖSER, 1965). Im einzelnen wurde folgende Einteilung der Erreger vorgenommen:

- | | |
|-----------------------|--------------------|
| 1. Micrococcaceae | 2. Streptokokken |
| 3. Coliforme Keime | 4. Hefen |
| 5. <i>C. pyogenes</i> | 6. <i>C. bovis</i> |
| 7. Sonstige Erreger | |

3.2.3.1 Micrococcaceae

B-Hämolysin

Der B-Hämolysinnachweis erfolgte mittels Blutagar (Tryptose Blood Agar Base, 0232-01-9, Difco, mit Zusatz von 7 % gewaschenen Rindererythrozyten). Staphylokokken mit ausgebildeter B-Hämolysinzone (hot-cold-lysis) galten als *S. aureus*.

Clumping Factor (CF)

Bei allen nicht B-hämolytischen Isolaten aus der Familie Micrococcaceae wurde der CF-Objektträgertest durchgeführt. Der Test wurde in Anlehnung an die Technik von GRÜN (1961) unter Verwendung von Rinderzitratsplasma durchgeführt. Mit einer Öse wurde Koloniematerial in einem kleinen Tropfen Plasma auf einem Objektträger verrieben. In einem Kontrollansatz wurde die spontane Agglutination in 0,14 M NaCl ausgeschlossen. Positiv bewertet wurde das unverzügliche Auftreten feiner bis grober Klümpchen, negativ die milchige Trübung des Plasmas. CF-positive Stämme galten als *S. aureus*.

Desoxyribonuklease (DNase)

Bei allen CF-negativen Isolaten ohne B-Hämolysen aus der Familie Micrococcaceae wurde der DNasenachweis durchgeführt. Der DNasenachweis erfolgte nach der von DEVRIESE und VAN DE KERCKHOVE (1979) beschriebenen Methode. DNase Agar (CM 321, Oxoid) wurde nach den Angaben des Herstellers zubereitet und zu 20ml pro Petrischale (90mm Durchmesser) ausgegossen. Auf den Agar wurde mittels Öse Material von einzelnen Kolonien des zu untersuchenden Erregers strichförmig verimpft und anschließend zwischen 20 und 28 Stunden bei 37°C bebrütet. Nach Überfluten des Nährbodens mit 1 N

HCl wurde abgelesen. Eine klare, breite Aufhellungszone um die Impfstreiche in dem ansonsten trüben Agar zeigte eine positive Reaktion an. Die Breite der klaren Aufhellungszone mußte mindestens viermal so groß sein wie die Breite des bewachsenen Impfstrichs, die im Regelfall zwischen 2 und 3mm lag. Positive Stämme galten als *S. aureus*. Kleinere Aufhellungszonen wurden als schwachpositiv bewertet.

Als *S. aureus* wurden diejenigen Micrococcaceae-Isolate bezeichnet, die entweder eine β -Hämolysen oder den Clumping-Factor oder eine starke DNase-Bildung aufwiesen. Diese routinemäßige Differenzierung schließt nicht aus, daß in einzelnen Fällen auch andere Staphylokokken-Spezies, wie *S. hyicus*, als *S. aureus* erfaßt werden. Der Bezeichnung "präsumtiver *S. aureus*" ist deshalb der Vorzug zu geben.

Penicillinase

Die CF-positiven bzw. β -hämolytischen Isolate wurden auf die Bildung von Penicillinase untersucht. Dabei wurde die Methode nach FOLEY und PERRET (1962) modifiziert von ROSSELET et al. (1977) und ROSSELET (1977) und beschrieben von GEDEK (1978) angewendet. Nutrient Agar (CM 3, Oxoid) mit 1 % Stärkezusatz (Stärke löslich, Art. 1253, Merck) wurde zu etwa 18ml pro Petrischale (90mm Durchmesser) ausgegossen. Auf die stärkehaltige Agarplatte wurde dann mit der Öse Material von *S. aureus*-Kolonien so verbracht, daß Makrokolonien entstehen konnten. Nach etwa 18stündiger Bebrütung wurde etwa 2ml einer Penicillin G-haltigen Jod-Jodkalilösung auf die Mitte der Petrischale verbracht und gleichmäßig über die Oberfläche verteilt. Der Agar verfärbte sich sofort dunkelblau bis schwarz. Nach Stehenlassen der Platten bei Zimmertemperatur für 15-30 Minuten zeigten Penicillinase-Bildner ringförmige Entfärbungszonen um die Makrokolonien. Penicillinase-negative Kolonien hatten keine derartige Entfärbungszonen. Die Penicillin G-haltige Jod-Jodkalilösung wurde folgendermaßen hergestellt: 53,1g Kaliumjodid (Kaliumjodid neutral, Art. 5043, Merck) wurden in 100ml Phosphatpuffer nach Sørensen (pH 7,0) gelöst, mit 2,03g Jod (Art. 4760, Merck) versetzt und einen Tag stehen gelassen. Vor der Testung wurde diese Stammlösung 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnt und 1 % Penicillin G-Kalium (Art. 834 449, Bayer) dazugegeben.

3.2.3.2 Streptokokken

Äskulinspaltung

Die Spaltung von Äskulin wurde auf äskulinhaltigem Blutagar geprüft (Tryptose Blood Agar Base, 0232-01-9, Difco, mit Zusatz von 7 % gewaschenen Rindererythrozyten und 0,1 % Äskulin, Art. 848, Merck). Eine bräunlich-schwarze Färbung im filtrierte UV-Licht wurde als positiv beurteilt.

Hämolyse

Bei allen äskulinnegativen Streptokokken wurde die Hämolyse nach den Richtlinien von SEELEMAN (1954) auf Blutagar (Tryptose Blood Agar Base, 0232-01-9, Difco, mit Zusatz von 7 % gewaschenen Rindererythrozyten und 0,1 % Äskulin, Art. 848, Merck) beurteilt. Vergrünende Stämme galten als *S. dysgalactiae*.

CAMP-Test

Bei allen äskulinnegativen, nicht vergrünenden Streptokokken wurde der CAMP-Test (CHRISTIE, ATKINS und MUNCH-PETERSEN, 1944) durchgeführt. Ein β -Toxin-produzierender Stamm von *S. aureus* wurde diametral auf Blutagar (Tryptose Blood Agar Base, 0232-01-9, Difco, mit Zusatz von 7 % gewaschenen Rindererythrozyten und 0,1 % Äskulin, Art. 848, Merck) verimpft. Senkrecht dazu wurden die zu prüfenden Stämme bis in unmittelbare Nähe des Impfstrichs des Staphylokokkenstamms aufgetragen. Nur eine typische schalen- bis trichterförmige totale Hämolyse im Bereich der Staphylokokken- β -Toxinzone wurde als positiv gewertet. CAMP-positive Stämme galten als *S. agalactiae*.

Hippuratspaltung

Bei zweifelhaftem oder negativem CAMP-Test wurde die Hippuratspaltung geprüft. Als Nährmedium diente Standard-II-Bouillon (Art. 7884, Merck), die mit 1 % Natriumhippurat (Art. 820648, Merck-Schuchard) versetzt wurde. Sie wurde in Rundbogengläser zu 5ml abgefüllt und 20 Minuten bei 120°C autoklaviert. Nach Beimpfen der Bouillon mit den zu

testenden Streptokokkenstämmen wurde bei 37°C 24 Stunden lang bebrütet. 1ml des entstandenen klaren Überstandes wurde in ein entsprechend kleines Röhrchen pipettiert, mit 0,5ml saurer FeCl₃-Lösung versetzt und gemischt. Ein positives Ergebnis wurde durch einen bräunlichen Niederschlag angezeigt. Positive Stämme galten als *S. agalactiae*, negative nicht β -hämolysierende Stämme galten als *S. dysgalactiae*.

Wachstum auf Penicillin G-haltigem (0,1 IE) Nährboden

Die äskulinpositiven Streptokokken wurden auf Blutagar (Tryptose Blood Agar Base, 0232-01-9, Difco, mit Zusatz von 7 % gewaschenen Rindererythrozyten und Zusatz von 0,1 % Äskulin, Art. 848, Merck) so ausgestrichen, daß Einzelkolonien entstanden, und dann auf ein Penicillin G-haltiges Nährmedium folgender Zusammensetzung verimpft:

Müller-Hinton-Agar (0252-01-4, Difco) wurde im flüssigem Zustand bei 50°C 100 IE Penicillin G (Art. 834 449, Bayer) pro Liter zugesetzt. Nach dem Ausgießen zu 20ml pro Petrischale (90mm Durchmesser) wurde Material von Streptokokken-Einzelkolonien strichförmig ausgestrichen. Nach ca. 20stündiger Bebrütung bei 37°C wurde das Wachstum überprüft. Kein Wachstum zeigte die negative Reaktion an, dichter Bakterienrasen die positive. Einzelne Kolonien wurden als zweifelhaft gewertet.

Zweifelhafte Stämme wurden erneut auf Müller-Hinton-Agar (0252-01-4, Difco) ohne Penicillin-G-Zusatz verimpft und für ca. 20 Stunden bei 37°C bebrütet. War hier einwandfreies Wachstum vorhanden, wurde die vorher zweifelhafte Reaktion als negativ eingestuft, war erneut schlechtes Wachstum vorhanden, wurde die vorher zweifelhafte Reaktion als positiv bewertet. Negative Stämme galten als *S. uberis* (STOVLBAEK PEDERSEN, 1960).

Wachstum bei 45°C

Die äskulinpositiven Streptokokken wurden auf das Wachstum bei 45°C geprüft.

Müller-Hinton-Bouillon (0757-01, Difco) und Nutrient-

Bouillon (CM 1, Oxoid) wurden in Rundbogengläser zu je ca. 5ml abgefüllt und 20 Minuten bei 120°C autoklaviert. Die zu prüfenden Streptokokkenstämme wurden zunächst in Müller-Hinton-Bouillon überimpft und für ca. 20 Stunden bei 37°C bebrütet. Von der bebrüteten Bouillon wurde nach gutem Durchmischen je ein Tropfen in ein Rundbogenglas mit Nutrient Bouillon gegeben. Anschließend wurde für 24 Stunden im Wasserbad bei 45°C bebrütet und die Reaktion abgelesen. Zeigte sich eine deutliche Trübung, wurde eine positive Reaktion konstatiert. Positive Streptokokkenstämme galten als Enterokokken (HAHN, 1981). Zur Kontrolle wurde bei jeder Untersuchung der Referenzstamm *S. faecalis* (ATTC 775) mitgeführt.

Serologische Differenzierung

Je ein Stamm pro Betrieb der Streptokokken mit folgenden Merkmalen wurde zufällig ausgewählt und auf Blutagar (Tryptose Blood Agar Base, 0232-01-9, Difco, mit Zusatz von 7 % gewaschenen Rindererythrozyten und Zusatz von 0,1 % Äskulin, Art. 848, Merck) übertragen.

1. Äskulin -, vergrünend oder β -Hämolyse -, CAMP - und Hippurat -
2. Äskulin +, kein Wachstum bei 0,1 IE Penicillin G und bei 45°C
3. Äskulin +, Wachstum bei 0,1 IE Penicillin G, kein Wachstum bei 45°C

Von diesen Stämmen wurden 80 % zufällig ausgewählt und an die Streptokokkenzentrale der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel gesandt. Hier erfolgte dankenswerter Weise die serologische Differenzierung auf folgende Streptokokken-Spezies bzw. -Gruppen:

1. *S. agalactiae*
2. *S. dysgalactiae*
3. *S. uberis*
4. Lactis-Streptokokken

3.2.4 Statistische Auswertung

Sämtliche Untersuchungsergebnisse wurden auf Lochkarten übertragen und EDV-gerecht ausgewertet.

4.1 Verteilung der mikrobiologischen Befunde auf Euterviertel, Kühe und Betriebe

Es wurde zunächst die Verteilung der einzelnen Mastitis-
erreger auf die insgesamt untersuchten 10 072 Euterviertel
von 2 518 Kühen in 167 Betrieben geprüft (Tabelle 1).

Euterviertel

In 3 703 (=36,8 %) der entsprechenden Viertelgemelkproben
konnten keine Erreger nachgewiesen werden.
Bei 4 131 (=41,0 %) der Euterviertel wurden Erreger gerin-
ger Pathogenität (*C. bovis* und CF-negative, DNase-negative
bzw. DNase-schwachpositive Micrococcaceae) nachgewiesen.
2 238 (=22,2 %) der Euterviertel wiesen pathogene Mastitis-
erreger auf. Davon wurden 871 (=38,9 %) als *S. aureus*,
242 (=10,8 %) als *S. agalactiae*, 905 (=40,4 %) als Strep-
tokokken (außer *S. agalactiae*), 58 (=2,6 %) als Coliforme,
11 (=0,5 %) als Hefen und 9 (=0,4 %) als *C. pyogenes*
identifiziert. Als *S. aureus* wurden diejenigen Micrococca-
ceae-Isolate bezeichnet, die entweder eine β -Hämolysse oder
den Clumping-Factor oder eine starke DNase-Bildung aufwiesen.
Diese routinemäßige Differenzierung schließt nicht aus, daß
in einzelnen Fällen auch andere Staphylokokken-Spezies, wie
S. hyicus, als *S. aureus* erfaßt werden. Der Bezeichnung
"präsumtiver *S. aureus*" ist deshalb der Vorzug zu geben.
Sonstige Erreger wurden bei 40 (= 1,8 %), Mischinfektionen
bei 102 (=4,6 %) der mit Mastitiserregern infizierten Euter-
viertel nachgewiesen.

Kühe

Unter den 2 518 untersuchten Kühen befanden sich 252
(=10,0 %), bei denen alle vier Viertelgemelkproben bak-
teriologisch negativ waren.
C. bovis und CF-negative, DNase-negative bzw. DNase-
schwachpositive Micrococcaceae wurden bei 1 878 (=74,6 %)
der Kühe nachgewiesen. *S. aureus* wurde bei 590 (=23,4 %),
S. agalactiae bei 129 (=5,1 %), Streptokokken (außer *S. aga-*
lactiae) bei 649 (=25,8 %), Coliforme bei 49 (=1,9 %),

Hefen bei 10 (=0,4 %), *C. pyogenes* bei 9 (=0,4 %), sonstige Erreger bei 28 (=1,1 %) und Mischinfektionen bei 92 (=3,7 %) der Kühe nachgewiesen.

Betriebe

In 95 (=56,8 %) der untersuchten 167 Betriebe standen Kühe, bei denen alle vier Viertelgemelkproben bakteriologisch negativ waren.

In 163 (=97,6 %) der Betriebe wurden *C. bovis* und CF-negative, DNase-negative bzw. DNase-schwachpositive Micrococcaceae nachgewiesen. *S. aureus* wurde in 134 (=80,2 %), *S. agalactiae* in 30 (=18,0 %), Streptokokken (außer *S. agalactiae*) in 153 (=91,6 %), Coliforme in 36 (=21,6 %), Hefen in 10 (=5,9 %), *C. pyogenes* in 8 (=4,7 %), sonstige Erreger in 22 (=13,2 %) und Mischinfektionen in 57 (=34,1 %) der untersuchten Herden nachgewiesen.

Bei den 40 als sonstige Erreger bezeichneten Keimen handelte es sich in 26 Fällen um nicht weiter differenzierte Stäbchenbakterien. *Pseudomonas aeruginosa* wurde 8mal, *Nocardia* 4mal und *Listeria monocytogenes* 2mal identifiziert.

In 70 Fällen lagen Mischinfektionen von *S. aureus* und Streptokokken (außer *S. agalactiae*) vor, in 17 Fällen von *S. aureus* und *S. agalactiae* und in 13 Fällen von Streptokokken (außer *S. agalactiae*) und Coliformen. Infektionen mit *S. agalactiae* und Coliformen und Infektionen mit Streptokokken (außer *S. agalactiae*) und *C. pyogenes* wurden je 1mal gefunden.

Insgesamt 102 Mischinfektionen lagen vor.

4.2 Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel

Nach der Darstellung der Häufigkeit der einzelnen Mastitiserreger wurde die Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel untersucht (Tabelle 2). Hefen, *C. pyogenes* und die Gruppe "Sonstige Erreger" wurden hierbei nicht gesondert berücksichtigt, da die geringe Anzahl der Fälle eine statistische Aussage nicht zuließ.

Pathogene Keime wurden signifikant häufiger aus Hintervierteln als aus Vordervierteln isoliert.

Zwischen der Verteilung von *S. agalactiae* auf die Vorderviertel und die Hinterviertel ergab sich kein signifikanter Unterschied.

S. aureus, Streptokokken (außer *S. agalactiae*), Coliforme und Mischinfektionen wurden signifikant häufiger in Hintervierteln als in Vordervierteln nachgewiesen.

C. bovis und die Gruppe der CF-negativen, DNase-negativen bzw. DNase-schwachpositiven Micrococcaceae wurden signifikant häufiger aus Vordervierteln als aus Hintervierteln isoliert.

4.3 Gehäufte Nachweis eines Erregers im einzelnen Betrieb

133 Betriebe mit mehr als 5 Kühen und hoher Infektionsrate (über 20 % der Kühe mit Nachweis von Mastitiserregern) wurden auf das Dominieren eines einzelnen Mastitiserregers im einzelnen Bestand untersucht (Tabelle 3).

Ein Dominieren eines einzelnen Erregers wurde unterstellt, wenn über 50 % der Nachweise von Erregern auf den gleichen Erreger entfielen.

In 85 (=63,1 %) dieser 133 Betriebe wurde das Dominieren eines Mastitiserregers festgestellt. In 45 (=52,9 %) dieser 85 Betriebe war *S. aureus* der vorherrschende Mastitiserreger, in 17 (=20,0 %) *S. uberis* und in 14 (=16,5 %) *S. agalactiae*. In 4 (=4,7 %) Betrieben war *S. dysgalactiae*, in 2 (=2,4 %) Enterokokken und in einem (=1,2 %) Coliforme der dominierende Keim.

In 48 (=36,1 %) Betrieben konnte kein Dominieren eines Erregers festgestellt werden .

4.4 Beziehungen zwischen mikrobiologischem Befund und Zellgehalt der Euterviertel

Die mikrobiologischen Befunde wurden in Beziehung zum arithmetischen und geometrischen Mittel sowie zum Medianwert der Zellgehalte der entsprechenden Euterviertel gesetzt (Tabelle 4).

Anhand der Zellgehalte sollten Rückschlüsse auf die Pathogenität der einzelnen Mastitiserreger gezogen werden.

Es zeigte sich, daß Euterviertel, die mit *C. bovis* und CF-negativen, DNase-negativen bzw. DNase-schwachpositiven Micrococcaceae infiziert waren, im Vergleich zu den Eutervierteln ohne bakteriologischen Befund nur einen geringgradigen, aber deutlich höheren Zellgehalt aufwiesen. Das kommt auch beim Vergleich der Medianwerte und der geometrischen Mittel zum Ausdruck.

Die mit pathogenen Mikroorganismen infizierten Euterviertel bedingten dagegen einen starken Anstieg des Zellgehalts. Unter den häufigen Mastitiserregern war der Anstieg bei *S. agalactiae* besonders hoch. Hohe Anstiege verzeichneten auch die seltenen Mastitiserreger, wie Coliforme und Hefen. Die Unterschiede zwischen den Anstiegen von *S. aureus* und Streptokokken (außer *S. agalactiae*) waren geringgradig. Die Zellgehalte der bakteriologisch negativen Euterviertel lagen dagegen mit einem arithmetischen Mittel von 426 000/ml höher als erwartet.

4.5 Mikrobiologische Befunde und Zellgehaltsgrenzwerte

Die Beziehungen zwischen mikrobiologischem Befund und Zellgehalt werden deutlicher, wenn der Zellgehalt in Form von Zellgehaltsbereichen zugrunde gelegt wird (Tabelle 5). Die Pathogenität der einzelnen Mastitiserreger kommt durch die Darstellung der Prozentsätze an Milchproben, deren Zellgehalt oberhalb der Grenzwerte von 100 000,

350 000, 500 000 bzw. 1 000 000 Zellen/ml liegen, besser zum Ausdruck.

Nahezu alle Euterviertel (87-100 %), die mit Mastitis-erregern infiziert waren, lagen oberhalb der Zellgehaltsgrenze von 100 000/ml. Deutliche Abstufungen gab es für die praktisch relevanten Zellgehaltsbereiche von über 350 000/ml und über 500 000/ml.

Unter den häufig vorkommenden Mastitiserregern war die Pathogenität von *S. agalactiae* am höchsten, gefolgt von *S. aureus* und der Gruppe der Streptokokken (außer *S. agalactiae*).

Überraschend lagen 20 % bzw. 14 % der Milchproben ohne bakteriologischen Befund über den Grenzwerten von 350 000 bzw. 500 000 Zellen/ml.

Es zeigte sich, daß deutlich mehr Euterviertel, die mit *C. bovis* und CF-negativen, DNase-negativen bzw. DNase-schwachpositiven Micrococcaceae infiziert waren, oberhalb der beschriebenen Zellgehaltsgrenzwerte lagen als Euterviertel ohne Erregernachweis.

4.6 Gruppierung der Euterviertel nach Zellgehaltsbereichen und bakteriologischem Befund

In diesem Abschnitt sollte pauschal dargestellt werden, in welchem Umfang Viertel-Anfangsgemelkproben mit abnormem Zellgehalt bakteriologisch negativ sind (Tabelle 6).

Aus der Tabelle geht hervor, daß ein relativ hoher Prozentsatz von Eutervierteln mit abnormem Zellgehalt einen negativen bakteriologischen Befund hat bzw. schwach euterpathogene Keime ("minor pathogens") aufweist.

4.7 Verteilung von Micrococcaceae-Isolaten auf Euterviertel, Kühe und Betriebe

Die Verteilung der 2 419 Micrococcaceae-Isolate auf Euterviertel, Kühe und Betriebe wurde unter Berücksichti-

gung einzelner Merkmale der Keime untersucht (Tabelle 7).

Von den 2 419 untersuchten Isolaten waren 871 (=36,0 %) *S. aureus* und 1 548 (=64,0 %) den anderen Micrococcaceae zuzuordnen.

Von den 871 als *S. aureus* identifizierten Isolaten waren 42,1 % β -Hämolysen-positiv, 40,9 % CF-positiv und 17,0 % CF-negativ und DNase-positiv. Nur die CF-negativen und β -Hämolysen-negativen Isolate wurden auf DNase geprüft.

723 β -Hämolysen-positive bzw. CF-positive Isolate wurden auf Penasebildung untersucht. Hiervon waren 80,6 % Penase-negativ und 19,4 % Penase-positiv.

Von den untersuchten 1 548 anderen Isolaten aus der Familie Micrococcaceae waren 82,0 % DNase-negativ und 18,0 % DNase-schwachpositiv.

4.8 Micrococcaceae-Isolate und Zellgehalt

Nach der Darstellung der Häufigkeit der Micrococcaceae-Isolate im Rahmen der Studie wurden die Beziehungen zwischen dem Micrococcaceae-Befund und dem arithmetischen und geometrischen Mittel sowie dem Medianwert der Zellgehalte der entsprechenden Euterviertel geprüft, wobei einzelne Merkmale der Keime berücksichtigt wurden (Tabelle 8). Auf diese Weise sollten Rückschlüsse auf die Pathogenität der einzelnen Gruppen von Micrococcaceae gezogen werden.

Euterviertel, die mit *S. aureus* infiziert waren, wiesen einen deutlich höheren Zellgehalt auf, als Euterviertel, bei denen andere Micrococcaceae nachgewiesen wurden.

Euterviertel mit β -Hämolysen-positiven Isolaten wiesen dabei den höchsten Zellgehalt auf, gefolgt von CF-positiven Stämmen und CF-negativen, DNase-positiven Stämmen.

Zwischen Penase-negativen Stämmen und Penase-positiven Stämmen bestand kein deutlicher Unterschied.

Bei den anderen Micrococcaceae lag der Zellgehalt der

CF-negativen, DNase-schwachpositiven Stämme deutlich höher als der Zellgehalt der CF-negativen, DNase-negativen Stämme.

4.9 Micrococcaceae-Isolate und Zellgehaltsgrenzwerte

Unter Zugrundelegung von Zellgehaltsbereichen wurden die Zusammenhänge zwischen dem Micrococcaceae-Nachweis und der Pathogenität noch deutlicher (Tabelle 9).

S. aureus lag deutlich häufiger über den angeführten Grenzwerten des Zellgehalts als Stämme von anderen Micrococcaceae.

β -Hämolyse-positive Stämme von *S. aureus* lagen deutlich häufiger oberhalb der Zellgehaltsgrenzen von 350 000, 500 000 bzw. 1 000 000/ml als CF-positive Stämme, CF-positive Isolate wiederum deutlich häufiger als CF-negative, DNase-positive.

Zwischen den Penase-negativen und den Penase-positiven Stämmen ergaben sich keine deutlichen Unterschiede.

Bei den anderen Micrococcaceae zeigte sich, daß deutlich mehr CF-negative, DNase-schwachpositive Stämme oberhalb der verschiedenen Grenzwerte des Zellgehalts lagen als CF-negative, DNase-negative Stämme.

4.10 Verteilung von Streptokokken auf Euterviertel, Kühe und Betriebe

Es wurde die Verteilung der einzelnen Mastitiserreger aus der Gattung *Streptococcus* auf Euterviertel, Kühe und Betriebe untersucht (Tabelle 10).

Von 1 147 isolierten Mastitiserregern aus der Gattung *Streptococcus* war der am häufigsten gefundene Erreger *S. uberis*, gefolgt von *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*,

äskulin-positiven Streptokokken (außer *S. uberis* und Enterokokken), Enterokokken sowie β -hämolyisierenden Streptokokken.

Bei 755 Kühen wurden Mastitiserreger aus der Gattung *Streptococcus* gefunden. *S. uberis* war der am häufigsten isolierte Erreger, gefolgt von *S. dysgalactiae*, äskulin-positiven Streptokokken (außer *S. uberis* und Enterokokken), *S. agalactiae*, Enterokokken und β -hämolyisierenden Streptokokken.

Beim Vergleich der mit Mastitiserregern infizierten 155 Betrieben hatte *S. uberis* die weiteste Verbreitung. Überraschend war, daß *S. agalactiae* nur in 30 Betrieben gefunden wurde.

4.11 Streptokokken und Zellgehalt

Es wurden die Beziehungen zwischen den Streptokokken-Befunden und dem arithmetischen und geometrischen Mittel sowie dem Medianwert der Zellgehalte der entsprechenden Euterviertel geprüft (Tabelle 11).

Dadurch sollte ein besserer Einblick in die Pathogenität der Streptokokken erreicht werden.

Den höchsten Zellgehalt wiesen Viertel auf, die mit β -hämolyisierenden Streptokokken infiziert waren. Zwischen Eutervierteln, die mit *S. agalactiae* infiziert waren und Eutervierteln, bei denen *S. dysgalactiae* nachgewiesen wurde, ergaben sich keine deutlichen Zellgehaltsunterschiede. Euterviertel, bei denen *S. uberis* und Enterokokken nachgewiesen wurden, wiesen einen deutlich niedrigeren Zellgehalt auf. Die Unterschiede im Zellgehalt zwischen den mit *S. uberis* und den mit Enterokokken infizierten Eutervierteln waren nicht deutlich. Euterviertel, die mit äskulin-positiven Streptokokken (außer *S. uberis* und Enterokokken) infiziert waren, wiesen den geringsten Zellgehalt auf.

4.12 Streptokokken und Zellgehaltsgrenzwerte

Die Zuordnung der Streptokokken zu Zellgehaltsbereichen verbessert die Erkennung von Pathogenitätsunterschieden der Keime (Tabelle 12).

Nach der Ausrichtung am Grenzwert von 350 000 Zellen/ml ergibt sich folgende Pathogenitätsabstufung: 1. B-häm-lyisierende Streptokokken, 2. *S. agalactiae*, 3. *S. dysgalactiae*, 4. *S. uberis*, 5. Enterokokken und 6. äskulin-positive Streptokokken (außer *S. uberis* und Enterokokken).

4.13 Ergebnisse der serologischen Differenzierung von Streptokokken-Isolaten auf ihre Zugehörigkeit zu *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, und den Lactis-Streptokokken (Streptokokkenzentrale des Instituts für Hygiene der Bundesanstalt für MilCHForschung in Kiel)

Je ein Stamm pro Betrieb der als *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, und äskulin-positive Streptokokken (außer *S. uberis* und Enterokokken) bezeichneten Mastitisserreger wurden rein-gezüchtet. 80 % dieser Stämme wurden zur serologischen Differenzierung auf *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* und Lactis-Streptokokken an die Streptokokkenzentrale des Instituts für Hygiene der Bundesanstalt für MilCHForschung in Kiel gesandt.

Die Ergebnisse der serologischen Differenzierung zeigt Tabelle 13.

60 Streptokokken-Isolate der ersten Gruppe erwiesen sich in 88,3 % der Fälle als *S. dysgalactiae*.

90 Streptokokken-Isolate der zweiten Gruppe erwiesen sich in 93,3 % der Fälle als *S. uberis*.

Die 44 Streptokokken-Isolate der dritten Gruppe konnten zu 86,4 % nicht einer der vier erfassten Streptokokken zugeordnet werden. Der Rest der Isolate konnte *S. uberis* und *S. lactis* zugeordnet werden.

4.14 Erreger geringer Euterpathogenität und Zell-
 gehalt bzw. Zellgehaltsgrenzen

Um die Bedeutung der Erreger geringer Euterpathogenität ("minor pathogens") für die subklinische Mastitis des Rindes näher abzuklären, wurden sie in Beziehung zu dem arithmetische und geometrischen Mittel sowie dem Medianwert und den Zellgehaltsgrenzwerten von 350 000 und 500 000/ml gesetzt (Tabelle 14).

Die Tabelle zeigt, daß die Infektion eines Euterviertels mit "minor pathogens" mit einem geringgradigen, jedoch signifikanten Anstieg des Zellgehalts einhergeht.

4.15 Erreger geringer Euterpathogenität und Zell-
 gehalt bei Infektionen mit klassischen Mastitis-
 erregern

Nach der Darstellung der Bedeutung der Erreger mit geringer Euterpathogenität für die subklinische Mastitis des Rindes, sollte der Einfluß der "minor pathogens" auf den Zellgehalt bei Infektionen mit den klassischen Mastitis-erregern *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis* untersucht werden (Tabelle 15).

Es zeigte sich, daß Mischinfektionen mit klassischen Mastitiserregern und "minor pathogens" einen signifikant niedrigeren Zellgehalt aufwiesen als Reininfektionen mit *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis*.

4.16 Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-
 Mastitis-Tests und den elektronisch ermittelten
 Zellzahlen von Viertel-Anfangsgemelkproben

Die Ergebnisse der direkten und der indirekten Zellgehaltsbestimmung wurden zueinander in Beziehung gesetzt (Tabelle 16).

Dabei sollte die Frage geprüft werden, welche Zuverlässigkeit die indirekte Schnellmethode bei der Bestimmung des Zellgehalts von Viertel-Anfangsgemelkproben aufweist.

Die SMT-Reaktion war bei 6 324 Eutervierteln negativ. Das arithmetische Mittel der Zellgehalte dieser Euterviertel betrug $122 \times 10^3/\text{ml}$. 2 320 Euterviertel mit einem arithmetischen Mittel des Zellgehalts von $1 037 \times 10^3/\text{ml}$ wiesen eine schwach positive SMT-Reaktion auf, 751 Euterviertel mit einem arithmetischen Mittel von $2 847 \times 10^3/\text{ml}$ eine positive und 580 Euterviertel mit einem arithmetischen Mittel von $7 405 \times 10^3/\text{ml}$ eine stark positive. Auf 97 Eutervierteln war die Milch sinnfällig verändert. Das arithmetische Mittel des Zellgehalts für diese Euterviertel betrug $8 094 \times 10^3/\text{ml}$.

Auch beim Vergleich der fünf unterschiedlichen Reaktionsstufen des Schalm-Mastitis-Tests mit den Medianwerten und dem geometrischen Mittel des Zellgehalts ergab sich eine gute Übereinstimmung der Versuchsergebnisse.

4.17 Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und verschiedenen Grenzwerten des Zellgehalts

Die Treffsicherheit des SMT ließ sich noch besser beurteilen, wenn die verschiedenen SMT-Reaktionsstufen den praxisrelevanten Zellzahlbereichen von $> 350\ 000$ bzw. $> 500\ 000$ zugeordnet wurden (Tabelle 17).

17 % bzw. 10 % der Proben mit negativen SMT-Ergebnis wiesen demnach einen abnormen Zellgehalt auf.

Um die Ergebnisse statistisch abzusichern, wurde die Korrelation zwischen den Ergebnissen der direkten und indirekten Zellgehaltsbestimmung ermittelt.

Es ergab sich ein hochsignifikanter Korrelationskoeffizient sowohl für Euterviertel mit negativem bakteriologischem Befund ($r = +0,76$) als auch für Euterviertel mit Nachweis pathogener Mikroorganismen ($r = +0,77$).

4.18

Tabellen

- Tab. 1 Verteilung der mikrobiologischen Befunde auf Euterviertel, Kühe und Betriebe
- Tab. 2 Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel
- Tab. 3 Gehäufte Nachweis eines Erregers im einzelnen Betrieb
- Tab. 4 Beziehungen zwischen mikrobiologischem Befund und Zellgehalt der Euterviertel
- Tab. 5 Mikrobiologische Befunde und Zellgehaltsgrenzwerte
- Tab. 6 Gruppierung der Euterviertel nach Zellgehaltsbereichen und bakteriologischem Befund
- Tab. 7 Verteilung von Micrococcaceae-Isolaten auf Euterviertel, Kühe und Betriebe
- Tab. 8 Micrococcaceae-Isolate und Zellgehalt
- Tab. 9 Micrococcaceae-Isolate und Zellgehaltsgrenzwerte
- Tab. 10 Verteilung von Streptokokken auf Euterviertel, Kühe und Betriebe
- Tab. 11 Streptokokken und Zellgehalt
- Tab. 12 Streptokokken und Zellgehaltsgrenzwerte
- Tab. 13 Ergebnisse der serologischen Differenzierung von Streptokokken-Isolaten auf die Zugehörigkeit zu *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* und den Lactis-Streptokokken
- Tab. 14 Erreger geringer Euterpathogenität und Zellgehalt bzw. Zellgehaltsgrenzen
- Tab. 15 Erreger geringer Euterpathogenität und Zellgehalt bei Infektionen mit klassischen Mastitiserregern
- Tab. 16 Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und den elektronisch ermittelten Zellzahlen von Viertel-Anfangsgemelkproben
- Tab. 17 Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und verschiedenen Grenzwerten des Zellgehalts

Tabelle 1

Verteilung der mikrobiologischen Befunde auf Enterviertel, Kühe und Betriebe

Mikrobiologischer Befund	Enterviertel		Kühe		Betriebe	
	n		n		n	
<i>S. aureus</i>	871		590		134	
<i>S. agalactiae</i>	242		129		30	
Streptokokken (außer <i>S. agalactiae</i>)	905		649		153	
Coliforme	58		49		36	
Hefen	11		10		10	
<i>C. pyogenes</i>	9		9		8	
Sonstige Erreger	40		28		22	
Mischinfektionen	102		92		57	
<i>C. bovis</i> , CF - und DNase - oder DNase + Micrococcaceae	4 131		1 878		163	
Negativ	3 703		252	1)		

 Σ 10 072

Gesamtmaterial: 10 072 Viertel-Anfangsgemmelkproben, 2 518 Kühe, 167 Betriebe

1) Kühe ohne mikrobiologischem Befund bei allen vier Entervierteln

Verteilung der Mastitiserreger auf die Position der einzelnen Euterviertel

1) VL = linkes Vorderviertel HL = linkes Hinterviertel
 VR = rechtes Vorderviertel HR = rechtes Hinterviertel

*** = p 0,01 (Irrtumswahrscheinlichkeit für Unterschiede zwischen Vorder- und
 *** = p 0,001 Hintervierteln)

Tabelle 3

Verteilung der Betriebe mit gehäuftem Nachweis* eines Erregers

Bakteriologischer Befund	Betriebe	Prozentsatz der Betriebe mit gehäuftem Nachweis* eines Erregers
n		
<i>S. aureus</i>	45	52,9
<i>S. uberis</i>	17	20,0
<i>S. agalactiae</i>	14	16,5
<i>S. dysgalactiae</i>	4	4,7
β -hämolyisierende Streptokokken	2	2,4
Enterokokken	2	2,4
Coliforme	1	1,2
Kein dominierender Erregernachweis	48	
		Σ 133

* über 50 % der Erregernachweise pro Betrieb

Tabelle 4

Mikrobiologischer Befund und Zellgehalt der Viertelgemelkproben

Mikrobiologischer Befund	Euterviertel n	$\bar{x}$	Zellen ($\times 10^3$ /ml Milch)	
			Z_A	$\bar{x}_G$
S. aureus	871	2 572	1 406	1 321
S. agalactiae	242	4 265	3 188	2 641
Streptokokken (außer S. agalactiae)	905	2 553	1 296	1 120
Coliforme	58	4 591	3 499	2 317
Hefen	11	4 556	3 770	2 975
C. pyogenes	9	9 282	10 000	8 911
Sonstige Erreger	40	2 867	1 087	1 094
Mischinfektionen	102	3 559	2 412	2 191
C. bovis, CF - und + DNase - oder DNase + Micrococcaceae	4 131	590	272	262
Negativ	3 703	426	100	123

 Σ 10 072 $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel Z_A = Medianwert $\bar{x}_G$ = geometrisches Mittel

Tabelle 5

Mikrobiologische Befunde und Zellgehaltsgrenzwerte

Mikrobiologischer Befund	Proben n	Prozentsatz der Proben über den Grenzwerten von			
		100	350	500	1 000 x10 ³ Zellen/ml
<i>S. aureus</i>	871	96	85	80	40
<i>S. agalactiae</i>	242	99	95	92	64
Streptokokken (außer <i>S. agalactiae</i>)	905	93	79	74	37
Coliforme	58	95	88	84	60
Hefen	11	91	91	91	73
<i>C. pyogenes</i>	9	100	100	100	100
Sonstige Erreger	40	87	63	57	40
Mischinfektionen	102	99	97	95	57
<i>C. bovis</i> , CF - und DNase - oder DNase + Micrococcaceae	4 131	78	41	30	5
Negativ	3 703	50	20	14	4

Σ 10 072

Tabelle 6

Gruppierung der Euterviertel nach Zellgehaltsbereichen und bakteriologischen Befund

Zellgehalts- bereiche	Euterviertel	Prozentsatz der Euterviertel		
	n	ohne bak- teriolo- gischen Befund	C. bovis, CF - und DNase - oder DNase + Micrococaceae	Nachweis von pathogenen Keimen
> 350 000	4 293	17	39	44
> 500 000	3 530	15	35	50

Tabelle 7

Verteilung von Micrococcaceae-Isolaten auf Euterviertel, Kühe und Betriebe

Merkmale der Isolate	Euterviertel		Kühe		Betriebe	
	n		n		n	
β -Hämolyse +	367		283		104	
CF +, β -Hämolyse -	356		247		84	
DNase +, CF -, β -Hämolyse -	148		121		60	
Penase -	583		408		116	
Penase +	140		106		51	
<i>S. aureus</i> (insgesamt)	871		590		134	
CF -, DNase -	1 270		863		154	
CF -, DNase ±	278		218		94	
Andere Micrococcaceae (insgesamt)	1 548		1 012		156	

Tabelle 8

Micrococcaceae-Isolate und Zellgehalt

Merkmale der Isolate	n	Euterviertel	Zellgehalt ($\times 10^3$ /ml Milch)		
			$\bar{x}$	Z_A	$\bar{x}_G$
β -Hämolys +	367		3 522	2 243	2 104
CF +, β -Hämolys -	356		2 118	1 127	1 036
DNase +, CF -, β -Hämolys -	148		1 309	906	745
Penase -	583		2 857	1 656	1 504
Penase +	140		2 723	1 625	1 408
<i>S. aureus</i> (insgesamt)	871		2 572	1 406	1 321
CF -, DNase -	1 270		535	221	212
CF -, DNase +	278		798	404	358
Andere Micrococcaceae (insgesamt)	1 548		582	250	233

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel
 Z_A = Medianwert
 $\bar{x}_G$ = geometrisches Mittel

Tabelle 9

Micrococcaceae-Isolate und Zellgehaltsgrenzwerte

Merkmale der Isolate	Proben n	Prozentsatz der Proben über den Grenzwerten von			
		100	350	500	1 000 x10 ³ Zellen/ml
β-Hämolyse +	367	99	92	89	55
CF +, β-Hämolyse -	356	93	81	75	33
DNase +, CF -, β-Hämolyse -	148	95	76	70	18
Penase -	583	96	86	82	45
Penase +	140	96	86	81	41
<i>S. aureus</i> (insgesamt)	871	96	85	80	40
CF -, DNase -	1 270	69	36	27	5
CF -, DNase ±	278	80	54	46	9
Andere Micrococcaceae (insgesamt)	1 548	71	39	30	5

Tabelle 10

Verteilung von Streptokokken auf Euterviertel, Kühe und Betriebe

Erreger	Euterviertel n	Kühe n	Betriebe n
<i>S. agalactiae</i>	242	129	30
<i>S. dysgalactiae</i>	192	157	76
β -Hämolyisierende Streptokokken	33	21	8
<i>S. uberis</i>	386	297	112
Enterokokken	115	99	66
Äskulin-positive Streptokokken (außer <i>S. uberis</i> und Enterokokken)	179	155	75
Streptokokken (insgesamt)	1 147	755	155
Streptokokken (außer <i>S. agalactiae</i>)	905	649	153
Äskulin-positive Streptokokken (insgesamt)	680	505	146

Streptokokken und Zellgehalt

Erreger	Enterviertel n	Zellen ($\times 10^3$ /ml Milch) $\bar{x}$	F _A	$\bar{x}_G$
S. agalactiae	242	4 265	3 188	2 641
S. dysgalactiae	192	4 035	2 572	2 477
β -hämolyisierende Streptokokken	33	5 832	5 169	4 239
S. uberis	386	2 475	1 305	1 236
Enterokokken	115	2 151	1 030	1 121
Äskulin-positive Streptokokken (außer S. uberis und Enterokokken)	179	787	323	301
Streptokokken (insgesamt)	1 147	2 915	1 543	1 342
Streptokokken (außer S. agalactiae)	905	2 553	1 296	1 120
Äskulin-positive Streptokokken (insgesamt)	680	1 976	929	839

 $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel $\bar{z}_A$ = Medianwert $\bar{x}_G$ = geometrisches Mittel

Tabelle 12

Streptokokken und Zellgehaltsgrenzwerte

Erreger	Proben	Prozentsatz der Proben über den Grenzwerten von				
		n	100	350	500	1 000 x10 ³ Zellen/ml
<i>S. agalactiae</i>	242	99	95	92	64	
<i>S. dysgalactiae</i>	192	98	93	91	61	
β -hämolyisierende Streptokokken	33	100	100	100	82	
<i>S. uberis</i>	386	96	84	81	35	
Enterokokken	115	97	83	77	30	
Äskulin-positive Streptokokken (außer <i>S. uberis</i> und Enterokokken)	179	79	46	34	9	
Streptokokken (insgesamt)	1 147	94	82	78	43	
Streptokokken (außer <i>S. agalactiae</i>)	905	93	79	74	37	
Äskulin-positive Streptokokken (insgesamt)	680	91	74	68	28	

Ergebnisse der serologischen Differenzierung von Streptokokken-Isolaten auf ihre Zugehörigkeit zu *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* und den Lactis-Streptokokken (Streptokokkenzentrale des Instituts für Hygiene der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel)

Merkmale der Streptokokken-Isolate	Isolate	Serologische Differenzierung
n		
Äskulin -, vergrünend oder CAMP -, Na-Hip- purat -, β -Hämolyse -	60	53 (=88,3 %) <i>S. dysgalactiae</i> 5 (= 8,3 %) nicht eingruppierbar 2 (= 3,3 %) <i>S. bovis</i>
Äskulin +, Hemmung bei 0,1 IE Penicillin G, kein Wachstum bei 45°C	90	84 (=93,3 %) <i>S. uberis</i> davon 49 (=58,3 %) <i>S. uberis</i> E 31 (=36,9 %) <i>S. uberis</i> P 4 (= 4,8 %) <i>S. uberis</i> P 5 (= 5,6 %) nicht eingruppierbar 1 (= 1,1 %) <i>S. lactis</i>
Äskulin +, keine Hemmung bei 0,1 IE Penicillin G, kein Wachstum bei 45°C	44	38 (=86,4 %) nicht eingruppierbar 3 (= 6,8 %) <i>S. lactis</i> 3 (= 6,8 %) <i>S. uberis</i>

Tabelle 14

Erreger geringer Euterpathogenität und Zellgehalt bzw. Zellgehaltsgrenzen

Bakteriologischer Befund	Euter- viertel	Zellgehalt ($\times 10^3$ /ml)		Prozentsatz der Proben über den Grenzwerten von	
		$\bar{x}$	F _A	$\bar{x}_G$	350 500 ($\times 10^3$ Zellen/ml)
Negativ	3	703	426	100	123 20 14
C. bovis	2	583	595 ***	283	42 30
CF -, DNase - Micrococcaceae	1	270	535 **	221	212 36 27
CF -, DNase + Micrococcaceae	278	798 ***	404	358	54 46
CF -, DNase - oder DNase + Micrococcaceae	1	548	582 ***	250	233 39 30
C. bovis, CF - und DNase - oder DNase + Micrococcaceae	4	131	590 ***	272	262 41 30

** = $p < 0,01$ (Überschreitungswahrscheinlichkeit im Vergleich zu bakterio-
 *** = $p < 0,001$ logisch negativem Befund)
 $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel
 F_A = Medianwert
 $\bar{x}_G$ = geometrisches Mittel

Tabelle 15

Erreger mit geringer Enterpathogenität ("minor pathogens") und Zellgehalt bei Infektionen mit klassischen Mastitisserregern

Bakteriologischer Befund	Euterviertel	Zellgehalt ($\times 10^3/\text{ml}$)
	n	$\bar{x}$
<i>S. aureus</i>	775	2 643
<i>S. aureus</i> und "minor pathogens"	96	2 001 *
<i>S. agalactiae</i>	170	4 732
<i>S. agalactiae</i> und "minor pathogens"	72	3 163 *
<i>S. dysgalactiae</i>	131	4 384
<i>S. dysgalactiae</i> und "minor pathogens"	72	3 288 *
<i>S. uberis</i>	250	2 884
<i>S. uberis</i> und "minor pathogens"	136	1 723 **

* = $p < 0,05$ (Überschreitungswahrscheinlichkeit im Vergleich zur
 ** = $p < 0,01$ Reininfektion)
 $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel

Tabelle 16

Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und den elektronisch ermittelten Zellzahlen von Viertel-Anfangsgemelkproben

Schalm-Mastitis-Test (Reaktionsstufe)	Proben n	Zellen ($\times 10^3/\text{ml}$)	$\bar{x}$	F_A	$\bar{x}_G$
negativ (=0)	6 321	221	122		
schwach positiv (=1)	2 320	1 037	709		
positiv (=2)	751	2 847	2 054		
stark positiv (=3)	580	7 405	6 515		
sinnfällig verändert (=4)	97	8 094	10 000		

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel

F_A = Medianwert

$\bar{x}_G$ = geometrisches Mittel

Tabelle 17

Beziehungen zwischen den Ergebnissen des Schalm-Mastitis-Tests und verschiedenen Grenzwerten des Zellgehalts

Schalm-Mastitis-Test (Reaktionsstufe)	Proben	Prozentsatz der Proben über den Grenzwerten von			
	n	100	350	500	1 000 $\times 10^3$ Zellen/ml
negativ (=0)	6 324	57	17	10	0
schwach positiv (=1)	2 320	96	78	65	12
positiv (=2)	751	99	96	93	51
stark positiv (=3)	580	100	99	99	89
sinnfällig verändert (=4)	97	100	100	100	97

In der vorliegenden Arbeit sollte zunächst ein Überblick über das Erregerspektrum der subklinischen Mastitis im Einzugsbereich des Eutergesundheitsdienstes Bayern in Grub gegeben werden.

Im Vergleich zu anderen Untersuchungen (STICHTING GEZOND-HEIDSZORG VOOR DIEREN, 1976; WILSON und RICHARDS, 1980) wurden in einem hohen Prozentsatz der untersuchten Viertel-gemelkproben pathogene Keime nachgewiesen. Das steht damit im Zusammenhang, daß die Untersuchungen ausschließlich in Betrieben mit gestörter Eutergesundheit durchgeführt wurden. Eine repräsentative Aussage über die Eutergesundheit der Betriebe einer größeren Region ist deshalb nicht möglich.

Die Aussage von LEE und FROST (1970), des STICHTING GEZOND-HEIDSZORG VOOR DIEREN (1976), von WILSON und RICHARDS (1980) und ANDREWS et al. (1983), wonach *S. aureus* bei der sub-klinischen Mastitis des Rindes die am häufigsten isolierte Spezies ist, konnte bestätigt werden. Überraschend war der hohe Anteil an Streptokokken (außer *S. agalactiae*). Sie stellten die stärkste zusammengehörige Gruppe von Erregern dar. *S. agalactiae* wurde wesentlich seltener isoliert. Der Anteil der mit diesem Erreger infizierten Herden war mit 18 % vergleichsweise gering. Dies dürfte auf Erfolge durch die in den letzten Jahren umfangreichen Bekämpfungs-maßnahmen, insbesondere der Behandlung beim Trockenstellen, zurückzuführen sein, die zu einem Rückgang der Galtinfek-tionen führen (OLSEN, 1975; WILSON, 1975; KARGE und HAAS-MANN, 1978; HEJLICEK, 1984).

Die Untersuchungen über die Dominanz einzelner Erreger in Beständen mit hoher Infektionsrate unterstreichen die hohe Beteiligung von *S. aureus* am Infektionsgeschehen. Mit größerem Abstand folgen *S. uberis* und *S. agalactiae*.

Die Häufigkeitsverteilung der Micrococcaceae-Isolate mit den verschiedenen Merkmalen zeigt, daß β -Hämolyse-positive

sowie β -Hämolyse-negative und CF-positive Stämme von *S. aureus* fast mit gleicher Häufigkeit gefunden werden. Der relativ hohe Anteil an β -Hämolyse-negativen, CF-negativen und DNase-positiven Isolaten ist vermutlich auf die von KLIMA (1972) sowie HILL (1983) beschriebenen Unzulänglichkeiten des CF-Objektträger-tests zurückzuführen. Dieser Test ist stark von der Beschaffenheit des verwendeten Plasmas abhängig. Zudem kommen Stämme von *S. aureus* vor, die eine negative Plasmaagglutination aufweisen. In der vorliegenden Untersuchung konnte nicht geklärt werden, wie groß der Anteil von *S. hyicus* subsp. *hyicus* bzw. *S. intermedius*, die nach DEVRIESE und VAN DER KERCKHOVE (1979) ebenfalls DNase-positive Reaktionen liefern, an dieser Gruppe war, da auf eine Weiterdifferenzierung verzichtet wurde. Häufigkeit und Verbreitung der Penicillinase-Bildner entsprachen etwa den Ergebnissen vorhergegangener Untersuchungen (GEDEK, 1978; GEDEK und KLEINSCHROTH, 1979). Wie aufgrund anderer Untersuchungen (GUTHY et al., 1972; ANDREWS et al., 1983) zu erwarten war, wurden andere *Micrococcaceae* wie *S. aureus* häufig isoliert.

Die Einteilung der Streptokokken erfolgte durch Routinemethoden, wobei zu erwarten war, daß der größte Teil der Isolate den genannten Spezies angehörte. *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis*, die drei klassischen Mastitisserreger der Gattung *Streptococcus*, waren in Übereinstimmung mit den Untersuchungen anderer Autoren (LEE und FROST, 1970; HOFFMANN, 1972; HAHN und TOLLE, 1979) die am häufigsten isolierten Streptokokken. *S. uberis* wies dabei die weiteste Verbreitung auf, gefolgt von *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae*. Enterokokken wurden nicht selten gefunden, so daß ihnen - in Abweichung von der Aussage der FACHGRUPPE MILCHHYGIENE DER DEUTSCHEN VETERINÄRMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT (1980) und in Übereinstimmung mit den Feststellungen des NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1978) der USA - neben den

klassischen Mastitiserregern *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis* eine nicht unbedeutende Rolle am Mastitisgeschehen eingeräumt werden muß, zumal nach den eigenen Untersuchungen immerhin 77 % der Euterviertel, bei denen Enterokokken nachgewiesen wurden, Zellgehalte von $> 500\ 000/\text{ml}$ aufwiesen. Auch die äskulinpositiven Streptokokken (außer *S. uberis* und Enterokokken) wurden relativ häufig gefunden, so daß sie im Gegensatz zur Auffassung der FACHGRUPPE MILCHHYGIENE DER DEUTSCHEN VETERINÄRMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT (1980) nicht als selten bezeichnet werden können. Da sich diese Gruppe jedoch als sehr heterogen erwies, kann ihre Bedeutung für das Mastitisgeschehen nicht abgeschätzt werden. In Übereinstimmung mit anderen Untersuchern (BEERWERTH, 1963; BERWERTH und KÜSER, 1965; BEERWERTH et al., 1965; GEDEK, 1981a; MÜLLER, 1982) wurden β -hämolyisierende Streptokokken (außer *S. agalactiae*) nur selten gefunden.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen (SCHMOLIK, 1980; OBERMAYER, 1981; SAILE, 1981; HEMAUER, 1982) konnte eine deutlich stärkere Beteiligung der Hinterviertel am Mastitisgeschehen gefunden werden, was im Gegensatz zu der Aussage von TEUTE (1961) auch für Infektionen mit Streptokokken (außer *S. agalactiae*) galt. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß nach den Beobachtungen von AEHNELT und KRAUSE (1955) die Hinterviertel in höherem Maße als die Vorderviertel Verunreinigungen mit Kot und Lochialsekret ausgesetzt sind.

Das Euter reagiert sehr schnell und sehr deutlich mit einem Zellgehaltsanstieg auf Infektionen. Die Stärke der zellulären Abwehrreaktion entspricht dabei der Pathogenität der Mastitiserreger (ZEIDLER et al., 1968a; GUTHY et al., 1970; WARD und SCHULZ, 1972; DE VRIES, 1975 und 1976; WILSON und RICHARDS, 1980; HARMON et al., 1981; JAARTSVELD et al., 1983; BROOKS und BARNUM, 1984). Ein weiteres Ziel der

vorliegenden Arbeit war es, einen Überblick über die Pathogenität der verschiedenen, aus Viertel-Anfangsgemelkproben isolierten Mastitiserreger zu geben.

Wie nach den Untersuchungen von GUTHY et al. (1970), WARD und SCHULZ (1972), DE VRIES (1975 und 1976), SHELDRAKE et al. (1983) sowie BROOKS und BARNUM (1984) zu erwarten war, zeigten Euterviertel, in deren Milchproben *C. bovis* und CF-negative, DNase-negative oder DNase-fragliche *Micrococcaceae* nachgewiesen wurden, nur einen geringgradig höheren Zellgehalt als Euterviertel ohne Erregernachweis. Übereinstimmend mit früheren Untersuchungen (ZEIDLER et al., 1968a; GUTHY et al., 1970; WARD und SCHULZ, 1972; WILSON und RICHARDS, 1980) wiesen die Euterviertel, die mit Mastitiserregern infiziert waren, einen deutlich höheren Zellgehalt auf als Euterviertel ohne Erregernachweis.

Die Medianwerte lagen durchweg unter den arithmetischen Mittelwerten, was die Aussage von ZEIDLER et al. (1968b) bestätigte, daß die arithmetischen Mittelwerte stark von der exponentiellen Ausschwemmung der Milchzellen beeinflusst werden. Die geometrischen Mittelwerte weisen ebenfalls auf die exponentielle Ausschwemmung der Zellen hin.

Die Zellgehaltsgrenzwerte von 350 000, 500 000 bzw. 1 000 000 erwiesen sich in ihrer Aussagekraft als nahezu gleichwertig. Der jeweilige Prozentsatz der einzelnen Erreger, die oberhalb der Zellgehaltsgrenzwerte von 350 000, 500 000 bzw. 1 000 000/ml lagen, kam in seiner Größenordnung durch das arithmetische Mittel der Zellzahlen entsprechend zum Ausdruck.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Pathogenität der einzelnen, nach Routinemethoden differenzierten Mastitiserreger aus der Gattung *Streptococcus* zu ermitteln.

Den höchsten Zellgehaltsanstieg wiesen Euterviertel auf, die mit *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* oder β -hämolyisierenden Streptokokken (außer *S. agalactiae*) infiziert waren. Überraschend war hierbei die im Gegensatz zu den Ergebnissen von ZEIDLER et al. (1968a) nahezu gleiche Pathogenität von *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae*. Allerdings hatten auch

WILSON und RICHARDS (1980) nur geringgradige Unterschiede zwischen *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae* bezüglich des Prozentsatzes der jeweiligen Milchproben oberhalb der Zellgehaltsgrenzwerte von 300 000 bzw. 500 000/ml beobachtet. Einen hohen, aber gegenüber der ersten Gruppe deutlich niedrigeren Zellgehaltsanstieg zeigten Euterviertel mit Nachweis von *S. uberis* oder Enterokokken. Überraschenderweise war die Pathogenität von *S. uberis* und Enterokokken - im Gegensatz zu den Feststellungen von ZEIDLER et al. (1968a) - nahezu gleich. Den geringsten Zellgehaltsanstieg wiesen Euterviertel mit äskulinpositiven Streptokokken, die nicht zu *S. uberis* und den Enterokokken gehören, auf. Die Pathogenität dieser Gruppe ist als gering anzusehen.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Beziehung zwischen den einzelnen Merkmalen der Isolate der Familie Micrococcaceae und der Pathogenität dieser Erreger zu ermitteln.

S. aureus bedingte einen starken Zellgehaltsanstieg, wobei sich zwischen den Isolaten mit verschiedenen Merkmalen deutliche Unterschiede ergaben.

Die höchste Pathogenität wiesen β -Hämolysen-positive Stämme auf. Dies scheint die Annahme von NAIDU und NEWBOULD (1975) zu bestätigen, wonach β -Hämolysine eine große Bedeutung für die Pathogenese der Staphylokokken-Mastitis des Rindes besitzen. Die CF-positiven, β -Hämolysen-negativen Staphylokokken waren mit Zellgehalten verbunden, die mit den Ergebnissen von ZEIDLER et al. (1968a), GUTHY et al. (1970) und WARD und SCHULZ (1972) übereinstimmten. Die Zellgehalte der Euterviertel, die mit CF-negativen und DNase-positiven Stämmen von *S. aureus* infiziert waren, lagen deutlich unter den Zellgehalten der Euterviertel, bei denen β -Hämolysen-positive oder CF-positive Stämme nachgewiesen worden waren. Zwischen Penicillinase-Bildnern und Penicillinase-sensiblen Stämmen zeigte sich im Zellgehalt der entsprechenden Euterviertel keine nennenswerten Unterschiede. Sie haben keine Unterschiede in der Pathogenität, wenn dieser Maßstab benutzt

wird. Euterviertel, die mit CF-negativen, DNase-negativen oder DNase-fraglichen Micrococcaceae infiziert waren, zeigten in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (GUTHY et al., 1970; WARD und SCHULZ, 1972; HARMON et al., 1981) nur einen geringen Anstieg des Zellgehalts. Der Vergleich zwischen den CF-negativen, DNase-negativen und den CF-negativen, DNase-fraglichen Stämmen zeigt jedoch, daß bereits eine schwache DNase-Bildung einen gewissen Einfluß auf die Pathogenität der Erreger zu besitzen scheint. Insgesamt ist diesen Keimen nur eine geringe Pathogenität zuzuschreiben.

Erreger geringer Euterpathogenität (*C. bovis* und CF-negative, DNase-negative oder DNase-fragliche Micrococcaceae) verursachten einen geringgradigen, jedoch signifikanten, Anstieg des Zellgehalts. Überraschenderweise wiesen Mischinfektionen mit den klassischen Mastitisserregern *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis* und Erregern geringer Euterpathogenität einen signifikant niedrigeren Zellgehalt auf als Reininfektionen mit den klassischen Mastitisserregern. Dies scheint darauf hinzuweisen, daß die Erreger geringer Euterpathogenität ("minor pathogens") einen gewissen Schutz gegenüber Infektionen mit pathogenen Erregern bieten.

Die im Rahmen der eigenen Untersuchungen ermittelten Zellgehalte lagen deutlich über den in der Literatur beschriebenen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß es sich beim vorliegenden Material um Viertel-Anfangsgemelkproben von Kühen aus Herden mit erhöhter Mastitisfrequenz handelt. Das irritierte Euter reagiert mit einem deutlicheren Zellgehaltsanstieg als dies bei gesunden Eutern der Fall sein würde. SHELDRAKE et al. (1983) beobachteten einen starken Einfluß der Herden auf den Zellgehalt.

Die serologische Differenzierung der Streptokokken in *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* und Lactis-Strep-

tokokken durch die Streptokokkenzentrale des Instituts für Hygiene der Bundesanstalt für MilCHForschung in Kiel ergab, daß es sich bei den vergrünenden, CAMP-negativen, Hippurat-negativen Streptokokken ohne β -HämolYse zumeist um *S. dysgalactiae* handelte. Eine Abgrenzung von *S. dysgalactiae* zu den anderen Streptokokken aufgrund dieser Merkmale scheint im Routinelabor mit ausreichender Sicherheit möglich zu sein.

Übereinstimmend mit anderen Untersuchern (STOVLBAEK PEDERSEN, 1960; GEDEK, 1981a) konnte *S. uberis* aufgrund seiner Penicillin-G-Empfindlichkeit von den anderen äskulinpositiven Streptokokken weitgehend abgegrenzt werden.

Überraschend war das Ergebnis der Differenzierung der Gruppe der äskulinpositiven, 0,1 IE Penicillin G tolerierenden, bei 45°C nicht wachsenden Streptokokken. Nach den Arbeiten von STOVLBAEK PEDERSEN (1960) und GEDEK (1981a) wäre in dieser Gruppe ein hoher Anteil an *Lactis*-Streptokokken zu erwarten gewesen. Der Anteil an *S. lactis* betrug in dieser Gruppe jedoch nur 6,8 %, während 86,4 % der Isolate dieser Gruppe nicht zu den Streptokokken gehörten, die in die Differenzierung einbezogen waren. Da die Abgrenzung der Enterokokken aufgrund ihrer Fähigkeit bei 45°C zu wachsen sicher ist (HAHN, 1981), bedarf es weiterer Untersuchungen, um die Zugehörigkeit dieser Stämme zu klären.

Aufgrund der Ergebnisse der Untersuchungen kann festgestellt werden, daß die Abgrenzung von *S. uberis* anhand seiner hohen Penicillin-G-Empfindlichkeit in der Routinediagnostik brauchbar ist.

1. 10 072 Viertelgemelke (Anfangsgemelkproben) von 2 518 Kühen aus 167 Betrieben in Oberbayern wurden zytologisch und mikrobiologisch untersucht. Die Untersuchungen sollten Auskunft geben über die Häufigkeit der einzelnen Mastitiserreger, über die Beziehungen der Erreger unter Herausstellung bestimmter Merkmale zum Zellgehalt und über die Beziehungen des California-Mastitis-Tests zur Zellzahl. Die Zellgehaltsbestimmung erfolgte direkt durch Zählung der somatischen Zellen auf fluoreszenz-optischem Wege (FOSSOMATIC 90, N. FOSS ELECTRIC) und indirekt anhand des California-Mastitis-Tests. Die mikrobiologische Untersuchung wurde nach aseptischer Probenahme auf kulturellem Wege vorgenommen.

2. Unter den Mastitiserregern war *S. aureus* die am häufigsten isolierte Spezies (n=871), *Streptococcus* die am häufigsten isolierte Gattung (n=1 147). Mischinfektionen blieben dabei unberücksichtigt. *S. agalactiae* verhielt sich in seiner Häufigkeit zu der der übrigen Streptokokken wie 1:3,74. In der Häufigkeit folgten Mischinfektionen (n=102), Coliforme (n=58) und andere Erreger (n=60). *S. agalactiae* wurde in nur 30 von 167 Herden nachgewiesen.

In Betrieben mit hoher Infektionsrate erwies sich *S. aureus* als dominant (52,9 % der Fälle), gefolgt von *S. uberis* (20 %) und *S. agalactiae* (16,5 %).

3. Zur Abschätzung der Pathogenität der einzelnen Erreger erwiesen sich die arithmetischen Mittelwerte, die Medianwerte und die geometrischen Mittelwerte der Zellzahlen als ebenso geeignet wie der Anteil der die jeweiligen Erreger enthaltenden Proben mit Überschreitung der Zellzahlgrenzwerte von 350 000 oder 500 000/ml.

Von 871 *S. aureus*-Isolaten waren 42,1 % β -Hämolysen-positiv, 40,9 % β -Hämolysen-negativ und CF-positiv und 17,0 % β -Hämolysen-negativ, CF-negativ und DNase-positiv. Als *S. aureus*

wurden diejenigen Micrococcaceae-Isolate bezeichnet, die entweder eine β -Hämolyse oder den Clumping-Factor oder eine starke DNase-Bildung aufwiesen. Diese routinemäßige Differenzierung schließt nicht aus, daß in einzelnen Fällen auch andere Staphylokokken-Spezies, wie *S. hyicus*, als *S. aureus* erfasst werden. Der Bezeichnung "präsumtiver *S. aureus*" ist deshalb der Vorzug zu geben. Von 723 geprüften Isolaten erwiesen sich 19,4 % als Penicillinase-Bildner.

Nach dem Anteil der Viertelgemelkproben mit Zellzahlen $> 500\ 000/\text{ml}$ beurteilt, wiesen die β -Hämolyse-positiven Isolate die höchste Euterpathogenität auf (89 %), gefolgt von den β -Hämolyse-negativen und CF-positiven Isolaten (75 %) und den β -Hämolyse-, CF-negativen und DNase-positiven Isolaten (70 %). Die entsprechenden Werte für Penicillinase-Bildner und Penicillinase-sensible Isolate betrugen 81 % bzw. 82 %.

Bei den Mastitisserregern der Gattung *Streptococcus* erbrachten die β -hämolisierenden Streptokokken (100 %) und *S. agalactiae* (92 %) den höchsten Anteil an Viertelgemelkproben mit Zellzahlen über 500 000/ml.

4. In den Milchproben von nur 50 % der Euterviertel mit Zellzahlen von $> 500\ 000/\text{ml}$ konnten pathogene Keime nachgewiesen werden. 15 % der Proben waren mikrobiologisch negativ und 35 % enthielten *C. bovis* bzw. nicht zu *S. aureus* gehörige Micrococcaceae. In 30 % der Fälle wiesen Euterviertel, bei denen *C. bovis* nachgewiesen wurde, einen Zellgehalt von $> 500\ 000/\text{ml}$ auf. Der entsprechende Wert für mikrobiologisch negative Euterviertel lag bei 14 %.
5. Hinterviertel waren signifikant häufiger Infektionen mit *S. aureus*, Streptokokken und Coliformen ausgesetzt als die Vorderviertel.

Der California-Mastitis-Test zeigte eine zufriedenstellende Übereinstimmung mit der Zellzahlbestimmung auf fluoreszenzoptischem Wege.

RELATIONSHIP OF SOMATIC CELL COUNTS TO TYPE OF BACTERIA
IN QUARTER MILK SAMPLES OF SIMMENTAL COWS

1. 10 072 quarter foremilk samples of 2 518 cows from 167 herds in Oberbayern were examined for the presence of mastitis pathogens and on somatic cell count. The aim of this investigation was to describe the prevalence of various mastitis pathogens. Somatic cell count was examined in relation to the type of bacteria with special regard to various characteristics of the organisms and the results of the California Mastitis Test. Somatic cells were counted directly after the fluorescence-optical principle (FOSSOMATIC 90, N. FOSS ELECTRIC) and indirectly by the California Mastitis Test. Quarter foremilk samples were collected using sterile technique and cultured.

2. *S. aureus* was the most frequently isolated organism (n=871), *Streptococcus* the most frequently isolated genus (n=1 147). Mixed infections were ignored. The frequency of *S. agalactiae* to the frequency of the other streptococci was as 1:3,74. Next frequent were mixed infections (n=102), followed by coliform organisms (n=58) and other microbes (n=60). *S. agalactiae* was found only in 30 of 167 herds.

In herds with high mastitis level *S. aureus* was dominant (52,9 % of the infections), followed by *S. uberis* (20 %) and *S. agalactiae* (16,5 %).

3. For estimating the pathogenicity of the various mastitis pathogens, the limit of 350 000 or 500 000 somatic cells/ml was equal to the arithmetic mean, the geometric mean and the median.

42,1 % of 871 *S. aureus*-strains were β -haemolysin-positive, 40,9 % β -haemolysin-negative and CF-positive and 17,0 % β -haemolysin-negative, CF-negative and DNase-positive. Micrococci-strains with either β -haemolysis or clumping-

factor or strong DNase-reaction were called *S. aureus*. Through this routine differentiation it could not be excluded, that in individual cases other staphylococci-species, as *S. hyicus*, were called *S. aureus*. Therefore the term "presumptive *S. aureus*" should be preferred. 19,4 % of 723 tested strains were producing penicillinase.

The highest pathogenicity, estimated by the proportion of cell counts exceeding 500 000 cells/ml, was found for β -haemolysin-positive strains (89 %), followed by the β -haemolysin-negative, CF-positive strains (75 %) and the β -haemolysin-negative, CF-negative and DNase-positive strains (70 %). 81 % of the penicillinase-producing and 82 % of the penicillinase-negative strains showed cell counts exceeding 500 000 cells/ml.

Among the streptococcal infections β -haemolyzing streptococci (100 %) and *S. agalactiae* (92 %) showed the highest proportions of cell counts exceeding 500 000 cells/ml.

4. Only 50 % of all quarter foremilk samples with cell counts exceeding 500 000 cells/ml were associated with udder infections by major pathogens. 15 % were bacteriologically negative and 35 % were associated with udder infections by *C. bovis* resp. micrococci other than *S. aureus*. 30 % of the udder infections by *C. bovis* showed somatic cell counts exceeding 500 000 cells/ml compared with 14 % for bacteriologically negative quarter milk samples.
5. Infections with *S. aureus*, streptococci and coliform organisms were found significantly more frequent in hind quarters than in front quarters.

The California Mastitis Test showed a satisfactory correspondence with the cell counting after fluorescence-optical principle.

LITERATURVERZEICHNIS

- AEHNELT, E. (1955) Zur Colimastitis des Rindes.
KRAUSE, D. Dtsch. tierärztl. Wschr. 62,
211-216
- ANDREWS, R.J. (1983) Relationship between indivi-
KITCHEN, B. dual cow somatic cell counts
KWEE, W.S. and the mastitis infection
DUNCALFE, F. status of the udder.
Austr. J. Dairy Techn. 38,
71-74
- AYERS, H.S. (1922) Differentiation of hemolytic
RUPP, P. Streptococci from human and
bovine sources by the hydro-
lyses of sodium hippurate.
J. Infect. Dis. 30, 388-389
- AYNSLEY, L.H. (1965) The use of a direct test as
BOUL, J.M. an indication of subclinical
mastitis in dairy cattle.
Vet. Rec. 77, 379-382
- BAIRD-PARKER, A.C. (1974) Micrococcaceae
In Bergey's manual of deter-
minative bacteriology (8th ed.),
478-489
Williams & Wilkins Co., Balti-
more
- BEERWERTH, W. (1963) Die Eignung der bakteriolo-
gischen Untersuchung von Kan-
nenmilchproben als Grundlage
eines Eutergesundheitsdienstes.
Arch. Lebensmittelhyg. 14,
123-124

- BEERWERTH, W. (1965) Streptokokken verschiedener
KÜSER, A. serologischer Gruppen und ihr
Vorkommen außerhalb des Rinder-
ereuters.
Milchwiss. 20, 590-593
- BEERWERTH, W. (1965) Die kulturelle Nachweisbar-
KÜSER, A. keit von pathogenen Strepto-
BRÜHN, A. kokken der Milch und ihre Be-
ziehungen zum Auftreten ver-
mehrten Zellgehaltes.
Milchwiss. 20, 519-524
- BERGMANN, A. (1980) Vorkommen und Bedeutung von
KUNTER, E. nicht zur Gruppe B gehörenden
WEHNERT, C. Streptokokken als Mastitis-
HAASMANN, S. erreger in galtfreien und
SIGGELKOW, S. schwach galtverseuchten Milch-
STEINER, A. viehanlagen.
HOFFMANN, R. Mh. Vet. Med. 35, 184-190
BACH, B.
GROSSMANN, P.
KUTZER, H.
TEMPLIN, G.
- BLACK, R. (1972) Locus of mammary gland in-
MARSHALL, R.T. fections of *Corynebacterium*
BOURLAND, C.T. *bovis*.
J. Dairy Sci. 55, 413-416
- BLOBEL, H. (1977) Zur Bakteriologie der Rinder-
mastitis.
Tierärztl. Umschau 32, 55-59
- BROOKS, B.W. (1984) Experimental colonization of
BARNUM, D.A. the bovine teat duct with *Co-*
rynebacterium bovis and the
effect on milk somatic cell
counts.
Can. J. Comp. Med. 48, 146-150

- BRÜCKLER, J. (1981) "Clumpig-Factor"-Reaktionen
 von Staphylococcus aureus
 von verschiedener Herkunft in
 Plasma- und Fibrinogenpräpa-
 rationen.
 Zbl. Bakt. Hyg., 1.Abt. Orig. A
251, 27-32
- BUCHANAN, R.E. (1974) Bergey's manual of determi-
 native bacteriology (8th ed.)
 Williams & Wilkins Co., Balti-
 more
- BUNDESANSTALT FÜR (1969) Die hygienische Wertigkeit der
 MILCHFORSCHUNG Rohmilch und Empfehlungen zu
 ihrer weiteren Verbesserung.
 Kiel. Milchw. Forsch.-Ber. 21,
 197-200
- BUNDESGESUND- (1984) Untersuchung von Lebensmitteln
 HEITSAMT Fluoreszenzoptische Zählung
 somatischer Zellen.
 Amtl. Sammlung §35 LMBG,
 Band 1/1 Allgemeiner Teil,
 Lebensmittel (L) Teil 1,
 L 01.01.-1
 Beuth Verlag GmbH, Berlin und
 Köln
- CHRISTIE, R. (1944) A note on a lytic phenomenon
 shown by group B streptococci.
 Austr. J. Exper. Biol. 22,
 201-356
- DAMME, L. VAN (1971) Die Mindesthemmkonzentration
 DEVRIESE, L. einiger Antibiotika gegenüber
 Staph. aureus-Stämmen die von
 Rindermastitiden isoliert wur-
 den (holländisch).
 Vlaams. Diergenees. Tijd. 40,
 493-499

- DEVRIESE, L.A. (1978) *Staphylococcus hyicus* (Sompolsinsky 1953) comb. nov. and
HAJEK, V. *Staphylococcus hyicus* subsp.
OEDING, P. *chromogenes* subsp. nov..
MEYER, S. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28,
SCHLEIFER, K.H. 482-490
- DEVRIESE, L.A. (1979) Identification of clumping-
factor negativ staphylococci
isolated from cow's udder.
Res. vet. Sci. 27, 313-320
- DEVRIESE, L.A. (1979) A comparison of methods and
KERCKHOVE, A. VAN DE the validity of desoxyribo-
nuclease tests for the cha-
racterization of *Staphylococci*
isolated from animals.
J. appl. Bact. 46, 385-393
- DEVRIESE, L.A., (1980) Identification of pathogenic
HAJEK, V. *Staphylococci* isolated from
animals and foods derived
from animals.
J. appl. Bact. 49, 1-11
- DIERNHOFER, K. (1932) Aeskulinbouillon als Hilfs-
mittel für die Differenzierung
der Euter- und Milchstreptokok-
ken bei Massenuntersuchungen.
Milchwiss. Forsch. 13, 368-374
- DIERNHOFER, K. (1936) Gelber Galt, Bekämpfung.
Stang Wirth, Band 11 (Ergän-
zungsband)
Verlag Urban und Schwarzen-
berg, Berlin und Wien
- DIERNHOFER, K. (1950) Diagnostik der Euterentzündun-
gen.
Wien. tierärztl. Mschr. 37,
809-866

- DOGGWEILER, R. (1983) Zellgehalt in der Milch ungeschädigter Euter.
HESS, E. Milchwiss. 38, 5-8
- EBERHART, R.J. (1977) Intramammary infections in a dairy herd with a low incidence of Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus infections.
BUCKALEW, J.M. J. Am. vet. med. Ass. 171, 630-634
- FACHGRUPPE MILCH-HYGIENE DER DEUTSCHEN VETERINÄRMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT (1980) Die subklinische Mastitis des Rindes und Vorschläge für bundeseinheitliche Richtlinien für ihre Bekämpfung.
Eigenverlag, Kiel
- FERRIERT, P. (1972) Localization and characterization of hippuricase activity of group B streptococci.
WANNAMAKER, L.W. Infection and Immunity 7, 747-752
NELSON, J.
- FOLEY, J.M. (1962) Screening bacterial colonies for penicillinase production.
PERRET, C.J. Nature, 195, 287-288
- FORBES, D. (1970) The pathogenic significance of various intramammary infections.
Br. Vet. J. 126, 260-267
- GEDEK, W. (1966) Zur Routinediagnostik in Milch vorkommender Staphylokokken und Mikrokokken.
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 110-113

- GEDEK, W. (1977) Zur Beurteilung der Eutergesundheit durch automatisierte Lactosegehaltsbestimmung des Einzelgemelks.
MAIER, H.
RICHTER, O.
SCHUMANN, H.
DENEKE, J. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 90, 349-352
- GEDEK, W. (1978) Penicillinase-Bildung und minimale Hemmkonzentration von Betalaktam-Antibiotika bei eutерpathogenen Staphylokokken.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 367-369
- GEDEK, W. (1979) Verbreitung von penicillinasebildenden Staphylokokken und Mikrokokken in Milchviehherden.
KLEINSCHROTH, E. Tierärztl. Umschau 34, 474-476
- GEDEK, W. (1981a) Empfindlichkeitsprüfung von Mastitiserregern gegenüber Penicillinen I. Streptokokken.
Tierärztl. Umschau 36, 688-691
- GEDEK, W. (1981b) Empfindlichkeitsprüfung von Mastitiserregern gegenüber Penicillinen II. Staphylokokken.
Tierärztl. Umschau 36, 767-770
- GERICK, K. (1973) Untersuchungen über den Zellgehalt von Sammelmilch.
POSPISIL, D.
GROSSKLAUS, D.
OBIGER, G. Arch. Lebensmittelhyg. 24, 39-44
- GRIFFIN, T.K. (1977) A method of diagnosing intramammary infections in dairy cows for large experiments.
DODD, F.H.
NAEVE, D.R.
KINGWILL, R.G.
WILSON, C.D.
WESTGARTH, D.R. J. Dairy Res. 44, 25-45

- GRÜN, L. (1961) Die biochemischen Eigenschaften der Staphylokokken im Hinblick auf Pathogenitätsbestimmung und Differenzierung der Keime zur Erkennung des Staphylokokken-Hospitalismus. Forschungsbericht des Landes Nordrhein-Westfalen Nr. 1049 Westdeutscher Verlag, Köln und Opladen
- GUTHY, K. (1970) Untersuchungen zur Eutergesundheit von Kühen aus einem Molkereieinzugsgebiet in Bayern. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 1-7
- GEDEK, W.
KIERMAYER, F.
STEINBRECHER, H.
PROBST, A.
- HAHN, G. (1970) Streptococcus - Eine Studie zur Struktur, Biochemie, Kultur und Klassifizierung. Kiel. Milchw. Forsch. Ber. 22, 333-546
- HAHN, G. (1979) Ergebnisse aus der Streptokokkenzentrale in Kiel von 1965-1977, ein Überblick. Zbl. Bakt. Hyg., 1.Abt. Orig. A 244, 427-438
- TOLLE, A.
- HAHN, G. (1981) Ergebnisse aus der Streptokokkenzentrale in Kiel von 1965-1978 - Mastitis Streptokokken. Zbl. Bakt. Hyg. 1.Abt. Orig. A 249, 323-340
- HAJEK, V. (1976) Staphylococcus intermedius, a new species isolated from animals. Int. J. Syst. Bacteriol. 26, 401-408

- | | | |
|--|--------|--|
| HALLMANN, L.
BURKHARDT, F. | (1974) | Klinische Mikrobiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart |
| HAMDY, A.H.
OLDS, N.L.
ROBERTS, B.J. | (1975) | Activity of penicillin against
bovine mastitis pathogens.
Am. J. vet. Res. <u>36</u> , 259-262 |
| HARMON, R.J.
LANGLOIS, B.E.
CRIST, W.L.
HEMKEN, R.W. | (1981) | Characterization of coagulase-
negative staphylococci from
quarter milk samples and as-
sociated somatic cell counts
(abstract).
J. Dairy. Sci. <u>64</u> , 147 |
| HARRIS, A.M.
DAVIES, A.M.
MARSHALL, M.J.
EVANS, J.M.
HENDY, P.G.
WATSON, D.J. | (1977) | The treatment of clinical
mastitis with cephoxazole
and penicillin.
Vet. Rec. <u>101</u> , 4-7 |
| HAUPT, H. | (1964) | Medizinisch-bakteriologische
Diagnostik für Ärzte und Tier-
ärzte.
Ferdinand Enke Verlag, Stutt-
gart. |
| HAZLETT, M.J.
LITTLE, P.B.
MAXIE, M.G.
BARNUM, D.A. | (1984) | Fatal mastitis of dairy cows:
A retrospective study.
Can. J. Comp. Med. <u>48</u> , 125-129 |
| HEESCHEN, W.
MEYER, A. | (1965) | Untersuchungen über biochemi-
sche Eigenschaften und sero-
logische Gruppenzugehörigkeit
von Mastitis Streptokokken.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr.
<u>78</u> , 269-271 |

- HEESCHEN, W. (1976) Somatische Zellen in Milch -
TOLLE, A. Meßsysteme und Standardisierung.
Milchwiss. 31, 13-14
- HEIDRICH, H.J. (1963) Krankheiten der Milchdrüse
RENK, W. und der Zitze.
Verlag Paul Parey, Hamburg
und Berlin
- HEJLICEK, K. (1984) Die Staphylokokkenmastitis
beim Rind in der CSSR.
Mh. Vet. Med. 39, 333-335
- HELLMANN, E. (1971) Untersuchungen von Streptokok-
HENTSCHKE, J. ken aus der Milch mastitiskran-
STALDER, B. ker und gesunder Rinder mit dem
CAMP-Test und mit gruppenspezi-
fischen Seren.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr.
84, 121-140
- HEMAUER, G. (1982) Ein Beitrag zur intramammären
Behandlung des Rindes mit Tri-
methoprim/Sulfonamid
Vet. med. Diss., München
- HESS, E. (1975) Bewertung der Typisierungsmark-
STUKER, G. male von Micrococcaceae in Be-
zug auf ihre Euterpathogenität.
Zbl. Vet. Med. B 22, 797-808
- HESS, E. (1978) Ergebnisse einer neuzeitlichen
MEYER, B. Mastitisdiagnostik.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 120,
163-170
- HILL, B.M. (1983) The thermo-stable nuclease test
as a method for identifying
Staphylococcus aureus.
Austr. J. Dairy Techn. 38,
95-96

- HOFFMANN, R. (1972) Untersuchungen über Vorkommen und Bedeutung von Streptokokken unterschiedlicher serologischer Gruppen in Milch. Mh. Vet. Med. 27, 472-474
- HWANG, M. (1974) Rapide hippurate hydrolyses method for presumptive identification of group B streptococci. J. Clin. Microbiol. 1, 114-115
- EDERER, G.M.
- INTERNATIONAL (1967) Annual Bulletin
DAIRY FEDERATION Part III
- INTERNATIONAL (1971) Annual Bulletin
DAIRY FEDERATION Part II
- JAARTSVELD, F.H. (1983) Somatic cell count in milk of
PUFFELEN, E. VAN dairy cows in relation of lac-
OSKAM, J. tation, age production level
TIELEN, M.J. and presence of pathogens.
VERSTEGEN, M.W. Neth. Milk Dairy J. 37, 79-90
ALBERS, G.A.
- JAIN, N.C. (1979) Common mammary pathogens and
factors in infection and mas-
titis.
J. Dairy Sci. 62, 128-134
- KARGE, E. (1978) Erfahrungen bei der Erhaltung
HAASMANN, S. galfreier Milchviehbestände
im Bezirk Schwerin.
Mh. Vet. Med. 33, 613-615
- KLIMA, H. (1972) Vergleichende Untersuchungen
an 200 Staphylokokkenstämmen
aus Milchproben mit erhöhter
Zellzahl.
Milchwiss. 27, 87-89

- KLOOS, W.E. (1975) Isolation and characterization of Staphylococci from human skin
SCHLEIFER, K.H. II. Description of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* and *Staphylococcus simulans*. Int. J. Syst. Bacteriol. 25, 62-79
- KLOOS, W.E. (1976) Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp. nov. and its subspecies. Int. J. Syst. Bacteriol. 26, 22-37
SCHLEIFER, K.H.
SMITH, R.F.
- KUNTER, E. (1975) Zur Antibiotika- und Chemo-therapieempfindlichkeit von Mastitiserregern. Arch. exp. Vet. Med. 29, 1-32
- LACHICA, R.V.F. (1971a) Nuclease production and lyso-staphin susceptibility of *Staphylococcus aureus* and other catalase-positive cocci. Appl. Microbiol. 21, 823-826
HOEPRICH, P.D.
GENIGEORGIS, C.
- LACHICA, R.V.F. (1971b) Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. Appl. Microbiol. 21, 585-587
GENIGEORGIS, C.
HOEPRICH, P.D.
- LANCEFIELD, R. (1933) Serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J. Exp. Med. 57, 571-595
- LEE, C.S. (1970) Mastitis in slaughtered dairy cows 1. Udder infection. Austr. Vet. J. 46, 201-203
FROST, A.J.

- LEE, C.S. (1980) Identification, properties and
WOODING, P. differential counts of cell
KEMP, P. populations using electron mi-
croscopy of dry cows secretions,
colostrum and milk from normal
cows.
J. Dairy Res. 47, 39-50
- LEIDL, W. (1961) Die Zellzahlbestimmung in der
SCHALM, O.W. Milch nach Prescottt und Breed
LÜPS, P. und ihre Fehlermöglichkeiten.
Milchwiss. 16, 557-565
- LERCHE, M. (1966) Lehrbuch der tierärztlichen
Milchüberwachung.
Verlag Paul Parey, Berlin und
Hamburg
- LINZELL, J.L. (1972) Day-to-day variations in milk
PEAKER, M. composition in the goat and
cow as a guide to the detection
of subclinical mastitis.
Br. vet. J. 128, 284-295
- LITTLE, T.W.A. (1968) Electrical conductivity and
HERBERT, C.N. the leucocyte count of bovine
FORBES, D. milk.
Vet. Rec. 82, 431-433
- LORENZEN, P. (1968) Zum Vorkommen von Streptokok-
ken verschiedener serologischer
Gruppen als Mastitiserreger un-
ter besonderer Berücksichti-
gung der Gruppe L.
Arch. Lebensmittelhyg. 19,
57-60

- MAIER, H. (1978) Zur Erfassung der subklinischen Rindermastitis durch die automatisierte Lactosegehaltsbestimmung von Einzelgemelken. Vet. med. Diss., München
- MCDERMOTT, M.P. (1982) Predictability by somatic cell counts related to prevalence of intramammary infection within herds. J. Dairy Sc. 65, 1535-1539
- ERB, H.N.
- NATZKE, R.P.
- MCDONALD, T.J. (1976) Streptococci isolated from bovine intramammary infections. Am. J. vet. Res. 37, 377-381
- MCDONALD, J.S.
- MEEK, A.H. (1980) Use of total and differential somatic cell counts to differentiate potentially infected from potentially non-infected quarters and cows and between herds of various levels of infection. J. Food Prot. 43, 10-14
- BARNUM, D.A.
- NEWBOULD, F.H.S.
- MOURSI, A.W. (1960) Zelldifferenzierung als Hilfsmittel für die Diagnose von Sekretionsstörungen und Mastitiden. Milchwiss. 15, 500-506
- OBIGER, G.
- MÜLLER, R. (1979) Antibiotikaresistenz bei Mastitiserregern. Schweiz. Arch. Tierheilk. 121, 9-14
- THALLER, M.

- | | | |
|---|--------|--|
| MÜLLER, W. | (1982) | Beitrag zum Vorkommen und Bedeutung CAMP-negativer β -hämolytischer Streptokokken in Einzelgemelken von Kühen des Bezirks Karl-Marx-Stadt im Überblick von 1975-1980.
Mh. Vet. Med. <u>37</u> , 170-172 |
| NAIDU, T.G.
NEWBOULD, F.H.S. | (1975) | Significance of beta-hemolytic Staph. aureus as a pathogen to the bovine mammary gland.
Zbl. Vet. Med. B, <u>22</u> , 308-317 |
| NATIONAL MASTITIS COUNCIL INC. | (1969) | Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis.
National Mastitis Council Inc., University of New Hampshire Press |
| NATIONAL MASTITIS COUNCIL | (1978) | Current concepts of bovine mastitis.
Washington D.C. 20 001, 30F Street, NW. |
| NATZKE, R.P.
EVERETT, R.W.
POSTLE, D.S. | (1972) | Normal milk somatic cell counts.
J. Milk Food Technol. <u>35</u> , 261-263 |
| NEAVE, F.K. | (1975) | Diagnosis of mastitis by bacteriological methods alone.
Proceedings of Seminar on Mastitis Control. International Dairy Federation, Ann. Bull. Doc. <u>85</u> , 19-36 |
| NEUNDORF, R. | (1963) | Zum gegenwärtigen Stand des Mastitisproblems.
Mh. Vet. Med. <u>18</u> , Sonderhaft 1, 25-28 |

- OBERMAYER, S. (1981) Feldversuche mit einem Kombinationspräparat von Ampicillin und Oxacillin zur intramammären Behandlung akuter Mastitiden des Rindes.
Vet. med. Diss., München
- OLSEN, S.J. (1975) Mastitis control system based upon extensive use of mastitis laboratories.
IDF, Ann. Bull., Reading 85, 410-421
- POSTLE, D.S. (1978) Induced staphylococcal infections in the bovine mammary gland.
Am. J. vet. Res. 39, 29-35
- POGUINSKY, M.
POUTREL, B. (1982) Predicting the probability of quarter infection (by major pathogens) from somatic cell concentration.
Am. J. vet. Res. 43, 1296-1299
- POUTREL, B.
RAINARD, R. (1910) zit. nach Schalm et al., 1971
- PRESCOTT, S.C.
BREED, R.S. (1968) Zur Frage prädisponierender Faktoren bei Mastitis 2. Mitteilung: Über den Zellgehalt der Milch in Abhängigkeit von Lebensalter, Leistung, Abkalbezeit und Laktationsstadium.
Milchwiss. 23, 395-399
- PROBST, A.
BEHRINGER, J. (1982) Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major or minor pathogens.
Am. J. vet. Res. 43, 2143-2146
- RAINARD, R.
POULTREL, B.

- REICHMUTH, J. (1968) Zum Einfluß subklinisch verlaufender Sekretionstörungen auf die Milchleistung des Rindes.
Vet. med. Diss., Berlin
- REICHMUTH, J. (1974) Zur Aussagekraft zytologischer und biochemischer Parameter der MILCH für die Erfassung von Sekretionsstörungen und Mastitiden.
Arch. Lebensmittelhyg. 25, 32-39
- HEESCHEN, W.
- REMMERS, J. (1975) Bestimmung der B-Streptokokken (*Sc. agalactiae*) mit Hilfe serologischer Methoden (Präzipitation, FA-Technik) und im CAMP-Test.
Arch. Lebensmittelhyg. 26, 104-106
- RINDSIG, R.B. (1979) Mastitis history, California Mastitis Test, and somatic cell counts for identifying cows for treatment in a selective dry cow therapy program.
J. Dairy Sci. 62, 1335-1339
- RODEWALD, R.G.
SMITH, A.R.
THOMSEN, N.K.
SPAHR, S.L.
- ROSSELET, A. (1977) A quantitative in vitro evaluation of the combined action of benzylpenicillin and dihydrostreptomycin on staphylococci isolated from the bovine udder with special regard to synergistic activities.
Zbl. Vet. Med., B, 24, 35-52
- SCHLUEP, J.
KNÜSEL, F.

- | | | |
|--|--------|--|
| ROSSELET, A. | (1977) | zit. nach Gedek, W. (1978) |
| RUND, J. | (1981) | Untersuchungen über Staphylokokken als bovine Mastitis-erreger und deren Antibiotikaresistenz.
Mh. Vet. Med. <u>36</u> , 303-305 |
| SAILE, R. | (1981) | Zur Therapie der chronischen Mastitis des Rindes mit zwei unterschiedlichen Antibiotikadosierungen.
Vet. med. Diss., München |
| SCHAEREN, W.
NICOLET, J.
SCHÄLLIBAUM, M. | (1984) | Differenzierung und Empfindlichkeitsprüfung von aesculin-spaltenden Streptokokken isoliert aus bovinen Euterinfektionen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. <u>97</u> , 135-137 |
| SCHALM, O.W.
WOODS, G.M. | (1953) | Micrococcus pyogenes in bovine milk I. Identification.
Am. J. vet. Res. <u>14</u> , 530-533 |
| SCHALM, O.W.
NOORLANDER, D.O. | (1957) | Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test.
J. Am. vet. med. Ass. <u>130</u> , 199-204 |
| SCHALM, O.W. | (1960) | Ein neuer Mastitis-Test.
Tierärztl. Umschau <u>15</u> , 151-154 |
| SCHALM, O.W.
CARROL, E.J.
JAIN, N.C. | (1971) | Bovine Mastitis.
Verlag Lea und Febinger, Philadelphia |

- SCHÄLLIBAUM, M. (1978) Zur Frage der Mastitisbekämpfung
BAUMGARTNER, H. aufgrund bakteriologischer Un-
VIFIAN, F. tersuchungen von Mischmilch-
proben.
Schweiz. Arch. Tierheilk.
120, 547-559
- SCHLEIFER, K.H. (1975) Isolation and characterisa-
KLOOS, W.E. tion of staphylococci from
human skin. I. Amended des-
criptions of Staphylococcus
epidermidis and Staphylococ-
saprophyticus and description
of three new species Staphylo-
coccus cohnii, Staphylococcus
hemolyticus and Staphylococ-
cus xylosus.
Int. J. Syst. Bacteriol. 25,
50-61
- SCHMIDT MADSEN, P. (1975) Fluoro-opto-electronic cell-
counting on milk.
J. Dairy Res. 42, 227-239
- SCHMOLIK, R. (1980) Feldversuche zur Frage der
Antibiotikum-Dosierung bei
intrazisternaler Behandlung
von chronischen und subklini-
schen Mastitiden des Rindes.
Vet. med. Diss., München
- SCHÜTZ, M. (1980) Kontamination der Milch mit
Streptococcus agalactiae.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 87,
143-144
- SEELEMAN, M. (1954) Biologie der Streptokokken.
Verlag Hans Carl, Nürnberg

- SHELDRAKE, R.F. (1983) Somatic cell count, electrical conductivity and serum albumin concentration for detecting bovine mastitis. J. Dairy Sci. 66, 548-555
- MCGREGOR, G.D.
- HOARE, R.J.T.
- SINELL, H.J. (1965) Zum Vorkommen von Leukozyten in der Milch von gesunden Kühen. Milchwiss. 20, 344-351
- NEUSCHULZ, J.
- STAHLHUT- (1973) Beziehungen zwischen dem Gehalt an somatischen Zellen und dem Lactosegehalt in Viertelgemelken. Milchwiss. 28, 766-768
- KLIPP, H.
- STICHTING (1976) Survey of the occurrence of bovine mastitis in the Netherlands. Tijdschr. Diergeneesk. 101, 317-318
- GEZONHEIDSZORG
- VOOR DIEREN
- STOVLBAEK (1960) Bakteriologische Mastitisdiagnostik II. Penicillinempfindlichkeit als Mittel zur Differenzierung äskulinspaltender Mastitisstreptokokken (dänisch). Nord. Vet.-Med. 12, 308-320
- PEDERSEN, P
- SUBCOMMITTEE ON (1965) Recommendations
- TAXONOMY OF Int. Bull. best. Nomencl. 15, 109-110
- STAPHYLOCOCCI AND
- MICROCOCCI
- TEUTE, H.J. (1961) Prädisponierende Faktoren für das Auftreten von Mastitis und Untersuchungen über die Zusammensetzung von Mastitismilch. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 74, 185-189

- THIEME, D. (1978) Der Zellgehalt der Milch als
HAASMAN, S. Kriterium bei der Eutergesundheitsüberwachung.
Mh. Vet. Med. 33, 226-232
- TOLLE, A. (1966) Ein Verfahren zur elektronischen
ZEIDLER, H. Zählung von Milchzellen.
HEESCHEN, W. Milchwiss. 21, 93-98
- TOLLE, A. (1968) Untersuchungen über somatische
ZEIDLER, H. Zellen, saprophytäre Keime und
HEESCHEN, W. antibiotisch wirksame Hemmstoffe
KRAACK, J. in der Rohmilch aus 12 Einzugsgebieten der BRD.
REICHMUTH, J. Kiel. Milchw. Forsch. Ber. 20,
343-394
- TOLLE, A. (1971) Grundlagen für eine systematische
Mastitisbekämpfung.
Teil I: Ätiologie, Bedeutung
Diagnostik.
Institut für Milchhygiene der
Bundesanstalt für Milchforschung, Kiel, Eigenverlag
- TOLLE, A. (1972) Streptokokken im Rahmen eines
Konzepts zur Mastitisbekämpfung.
Arch. Lebensmittelhyg. 23,
248-253
- TOLLE, A. (1976) zit. nach Wittkowski, G. (1979).
- TOLLE, A. (1977) Grundlagen einer systematischen
HEESCHEN, W. Bekämpfung der subklinischen
HAMANN, J. Mastitis des Rindes.
Kiel. Milchw. Forsch. Ber. 29,
3-103

- TOLLE, A. (1983) Zur Corynebacterium pyogenes-Mastitis - Bakteriologische Aspekte.
FRANKE, V. Dtsch. tierärztl. Wschr. 90,
REICHMUTH, J. 256-260
- VRIES, T. DE (1975) Primary infection of milk.
1. Bacterial infection inside the udder and its relation with the cell count of milk.
Neth. Milk Dairy J. 29, 127-134
- VRIES, T. DE (1976) Primary infection of milk.
2. Variation of bacterial and cell counts in milk during the course of milking.
Neth. Milk Dairy J. 30, 9-16
- WARD, G.E. (1972) Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria.
SCHULTZ, L.H. J. Dairy Sci. 55, 1428-1431
- WEIGT, U. (1964) Durch seltene Streptokokken verursachte Mastitiden und deren klinisches Bild.
GRUNERT, E. Dtsch. tierärztl. Wschr. 71,
1-5
- WEIGT, U. (1973) Untersuchungen über die bovine Hefemastitis unter besonderer Berücksichtigung ihrer Entstehung.
Habilitationsschrift, Tierärztliche Hochschule Hannover
- WEIGT, U. (1977) Sensibilitätstest und Mastitis-therapie.
BLECKMANN, E. Dtsch. tierärztl. Wschr. 84,
234-235

- WERNERY, H. (1975) Automatisierte Zählung somatischer Zellen in Milch. Arch. Lebensmittelhyg. 26, 28-29
- WIESNER, H.-U. (1975) Anforderungen an die Beschaffenheit von Rohmilch - frei sein von B-Streptokokken. Dtsch. tierärztl. Wschr. 82, 17-22
- WIESNER, H.-U. (1979) Serologischer Nachweis von B-Streptokokkenantigenen in Herdensammelmilch. Arch. Lebensmittelhyg. 30, 46-48
- WILSON, C.D. (1975) A practical mastitis control routine. IDF-Seminar, Reading 85, 422-438
- WILSON, C.D. (1980) A survey of mastitis in the British dairy herds. Vet. Rec. 106, 431-435
- RICHARDS, M.S.
- WITTKOWSKI, G. (1979) Messwerte verschiedener für die Rindermastitis-Diagnostik empfohlener Parameter in Abhängigkeit von der Gemelkfraktion. Vet. med. Diss., München
- ZEIDLER, H. (1968a) Zur Beurteilung zytologisch-bakteriologischer Untersuchungsbefunde im Rahmen der Mastitisdiagnostik. Milchwiss. 23, 674-677
- TOLLE, A.
HEESCHEN, W.

- ZEIDLER, H. (1968b) Zur Anwendbarkeit direkter und
TOLLE, A. indirekter Zellgehaltsbestim-
HEESCHEN, W. mungsverfahren für die Beur-
teilung von Eutergesundheit
und Milchqualität.
Arch. Lebensmittelhyg. 19,
189-192
- ZEIDLER, H. (1969) Über die Beziehung des Zell-
TOLLE, A. gehaltes der Sammelmilch zur
REICHMUTH, J. Mastitissituation im Herkunfts-
HEESCHEN, W. bestand.
1. Mitteilung: Die Beeinflus-
sung des Gehaltes an somatischen
Zellen durch physiologische
und pathologische Faktoren.
Arch. Lebensmittelhyg. 20,
193-199

Abschließend möchte ich Herrn Prof. Dr. W. Gedek für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Osterkorn für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.

Außerdem möchte ich mich bei den Mitarbeiterinnen des Tiergesundheitsdienstes für die stets gern gewährte Hilfe bedanken.

LEBENS LAUF

Name: Reinhard Otto Röder

geboren: 22. April 1957 in Pforzheim

Wohnort: Pforzheim, Grünewaldstr. 36

Eltern: Helmut Röder, Dipl.-Ing., Stud.-Prof.
Helga Röder, geb. Teisler, Hausfrau

Schule: 1964-1967 Volksschule Pforzheim
1967-1976 Kepler-Gymnasium Pforzheim

Zivildienst: 1977-1978 Caritasverband e.V. Pforzheim

Studium: WS 76/77 Biologie/Chemie, Universität Ulm
SS 78 Biologie/Chemie, Universität (TH) Karlsruhe
WS 78/79 - Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München
WS 83/84
März 1984 Staatsexamen
März 1984 Approbation

Beruf: Tierarzt

